
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA)

**Efeitos da contaminação fecal sobre a dinâmica e a estrutura da
alça microbiana em areias de praias do litoral norte do Estado de
São Paulo**

CRISTINA ROCHA PEREIRA

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Campus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Filho, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas (Área:
Microbiologia Aplicada).

Maio – 2014

CRISTINA ROCHA PEREIRA

**Efeitos da contaminação fecal sobre a dinâmica e a estrutura da alça
microbiana em areias de praias do litoral norte do estado de São Paulo**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Campus
de Rio Claro, Universidade
Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Filho, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas (Área:
Microbiologia Aplicada).

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Julia Fernandes Cardoso de Oliveira

RIO CLARO
2014

574.92 Pereira, Cristina Rocha
P436e Efeitos da contaminação fecal sobre a dinâmica e a estrutura da alça
microbiana em areias de praias do litoral norte do Estado de São Paulo /
Cristina Rocha Pereira. - Rio Claro, 2014
79 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro
Orientador: Ana Julia Fernandes Cardoso de Oliveira

1. Biologia marinha. 2. Microbiologia marinha. 3. Ecologia marinha.
4. Enterococos. 5. Saúde pública. 6. Poluição orgânica. 7. Teia trófica
microbiana. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE RIO CLARO

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE RIO CLARO

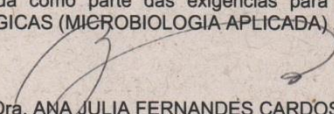
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

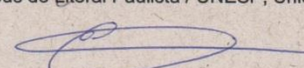
TÍTULO: Efeitos da contaminação fecal sobre a dinâmica e a estrutura da alça microbiana em areias de praias do litoral norte do Estado de São Paulo

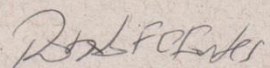
AUTORA: CRISTINA ROCHA PEREIRA

ORIENTADORA: Profa. Dra. ANA JULIA FERNANDES CARDOSO DE OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra. ANA JULIA FERNANDES CARDOSO DE OLIVEIRA
Campus do Litoral Paulista / UNESP, Unidade de São Vicente


Prof. Dr. EDISON BARBIERI
Instituto de Pesca da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, Divisão de Maricultura,
Base de Cananéia


Prof. Dr. ROBERTO FIORAVANTI CARELLI FONTES
Campus do Litoral Paulista / UNESP, Unidade de São Vicente

Data da realização: 25 de abril de 2014.

Aos meus pais Marcia e Elenildo eu dedico este trabalho, com muito amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me guiar, me dar forças e me acompanhar por todos os caminhos.

À minha família que eu amo muito, sem a qual eu não seria absolutamente nada e a vida não faria sentido algum.

À minha mãe Marcia, por toda a paciência, amor, carinho, cuidado, dedicação, broncas, lições e amizade.

Ao meu pai Elenildo, pelos conselhos, força, apoio e esforço de manter uma filha estudando fora de casa. Por causa dele eu cheguei muito além do que um dia eu imaginei que pudesse chegar.

Ao meu tio Ederson e minha irmã Larissa, pela infância maravilhosa e por fazerem parte da minha vida.

Aos meus avós que eu amo muito Francisca e Vitor, pelo carinho, amor, preocupação e por serem exemplo de respeito, bondade e simplicidade

Aos meus avós Josina e Antonio pelo amor, carinho, ensinamentos e por cada segundo que pude passar com eles. Infelizmente não estão mais aqui para compartilharmos esta conquista, mas os levo no meu coração e na minha mente para onde quer que eu vá.

Ao meu noivo que tanto amo Edil, por todo amor, carinho, companheirismo, paciência, conselhos, amizade e por tornar a caminhada da vida mais fácil e prazerosa

Aos meus bichinhos Marley, Nina, Sindy, Lara, Mike, Jack, Tyson, Batman e Robin que transformam a minha vida todos os dias, por mudarem o meu dia com apenas um olhar, por me fazerem companhia até as altas horas da madrugada quando eu estou fazendo algum trabalho ou estudando para provas e pelo amor incondicional.

Aos meus anjinhos Pingo, Safira, Nick, Fred, Kate e Lobo (meu eterno amigo que me acompanhou por 15 anos), por todo carinho, alegrias e amor incondicional.

Aos meus amigos que amo muito, por toda a alegria, carinho, amizade, por entenderem minha ausência quando é necessário e por fazerem parte da minha vida.

A todos os funcionários da UNESP São Vicente, por toda a dedicação, carinho, ajuda e amizade, proporcionando momentos muito agradáveis e divertidos.

A todos os meus professores da graduação e da pós-graduação por todo o aprendizado, amizade, pelas risadas. Se eu cheguei até aqui é devido à dedicação de todos eles.

A todos que me ajudaram nas minhas coletas do mestrado, fazendo delas muito mais agradáveis e divertidas.

À minha orientadora Ana Julia, pela orientação, conselhos, paciência e, sobretudo, pela amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pelo suporte financeiro.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

RESUMO

O crescente desenvolvimento do turismo nas regiões litorâneas pode gerar diversos impactos ambientais, aos quais, apenas recentemente, tem-se dedicado a devida atenção. A poluição orgânica pode afetar comunidades microbianas com consequências propagadas através de cadeias alimentares pelágicas inteiras afetando os ciclos biogeoquímicos. Existem poucos estudos sobre a ecologia microbiana nas areias de praia no Brasil. O objetivo deste estudo foi comparar a dinâmica microbiana nas areias de duas praias com diferentes graus de poluição, podendo inferir possíveis efeitos da poluição orgânica e fatores físico-químicos sobre a alça microbiana. Amostras de areia foram coletadas durante 24 horas nos períodos verão e inverno nas praias de Domingas Dias e Itaguá, localizadas no município de Ubatuba, Estado de São Paulo. As amostras foram analisadas para a avaliação das densidades e relações entre bactérias heterotróficas, cianobactérias, nanoflagelados heterótrofos, nanoflagelados autótrofos, microplâncton heterótrofo e microplâncton autótrofo, densidades dos indicadores de contaminação fecal *Enterococcus* sp. e *Escherichia coli*, quantidade de matéria orgânica, granulometria e temperatura do sedimento. Foram visualizadas diferenças entre as densidades dos microrganismos das praias de Domingas Dias e Itaguá. As alterações nas flutuações dos microrganismos da alça microbiana mostraram que a sua estrutura e dinâmica podem sofrer alterações advindas de diversos fatores, isolados ou em conjunto, como as descargas de efluentes orgânicos, as quantidades de matéria orgânica e os valores de temperatura do sedimento. A alça microbiana mostra ter um papel fundamental para a transferência de matéria e energia para níveis superiores da cadeia alimentar, principalmente em períodos oligotróficos do ano, ocorrendo alternâncias sazonais das atividades alimentares dos predadores dependendo do status trófico e da poluição do ambiente.

Palavras-chave: enterococos, alça microbiana, poluição orgânica, Domingas Dias, Itaguá.

ABSTRACT

The increasing development of tourism in coastal regions can generate various impacts to the environment, which only recently has been devoted sufficient attention. Organic pollution may affect microbial communities with consequences spread through the entire pelagic food webs and affecting biogeochemical cycles. There are few studies about microbial ecology in beach sands in Brazil. The aim of this study was to compare the microbial dynamics in sands of two beaches with distinct degrees of sewage input, to infer possible effects of sewage pollution and physical and chemical factors over microbial loop. Beach sand samples were collected during 24 hours in the summer and winter from Domingas Dias and Itaguá beaches, Ubatuba city, São Paulo State. The samples were analysed for heterotrophic bacteria, cyanobacteria, heterotrophic and autotrophic nanoflagellates, and heterotrophic and autotrophic microplankton interactions and densities, *Enterococcus* sp. and *Escherichia coli* densities, organic matter quantity, granulometry and temperature. Differences were seen between the densities of the microorganisms from the beaches of Domingas Dias and Itaguá. Changes in the fluctuations of the microorganisms of the microbial loop showed that the structure and dynamics may suffer resulting changes of several factors, alone or together as the discharges of organic wastewater, the amount of organic matter and temperature values of the sediment. The microbial loop is shown to have an important role in the transfer of matter and energy to higher levels of the food chain, especially in oligotrophic periods of the year, occurring seasonal alternations of food depending on the activities of predators and trophic status of environmental pollution.

Keywords: enterococci, microbial loop, organic pollution, Domingas Dias, Itaguá.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Mapa mostrando os pontos de coleta nas praias de Domingas Dias (ponto 1) e Itaguá (ponto 2), localizadas no município de Ubatuba.	21
Figura 2: Coleta de amostras de sedimento e obtenção da temperatura.	23
Figura 3: Método de Contagem Direta por Microscopia de Epifluorescência. Equipamento de filtração (a); Membrana Nucleopore Black disposta em lâmina (b); Adição de óleo mineral sobre a membrana (c); Lamínula colocada sobre a lâmina (d) e Microscópio de Epifluorescência Nikon Eclipse 50i (e).....	26
Figura 4: Valores mínimos, médios e máximos de temperatura do sedimento.	29
Figura 5: Valores de temperatura observados na primeira coleta de verão (a), na segunda coleta de verão (b), na primeira coleta de inverno (c) e na segunda coleta de inverno(d) nas praias de Domingas Dias e Itaguá no período de 24 horas.	30
Figura 6: Gráficos com as flutuações das densidades de <i>Escherichia coli</i> e <i>Enterococcus</i> sp. ao longo de 24 horas na primeira coleta de verão nas praias de Domingas Dias(a) e Itaguá(b), e na segunda coleta de verão nas praias de Domingas Dias (c) e Itaguá (d).	33
Figura 7: Flutuações das densidades de <i>Escherichia coli</i> e <i>Enterococcus</i> sp. ao longo de 24 horas na primeira coleta de inverno nas praias de Domingas Dias (a) e Itaguá (b), e na segunda coleta de inverno nas praias de Domingas Dias (c) e Itaguá (d). .	34
Figura 8: Porcentagens granulométricas dos sedimentos coletados nas praias de Domingas Dias e Itaguá.	36
Figura 9: Bactérias heterotróficas(a), cianobactérias(b), nanoheterótrofos(c), nanoautótrofos(d), microheterótrofos(e) e microautótrofos(f) visualizados em microscópio de epifluorescência.	39
Figura 10: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de verão na praia de Domingas Dias.	42
Figura 11: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de verão na praia de Itaguá.	43
Figura 12: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de verão na praia de Domingas Dias.	44
Figura 13: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de verão na praia de Itaguá.	45
Figura 14: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de inverno na praia de Domingas Dias.	46

Figura 15: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de inverno na praia de Itaguá.	47
Figura 16: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de inverno na praia de Domingas Dias.	48
Figura 17: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de inverno na praia de Itaguá.	49
Figura 18: Densidades Médias dos Microrganismos, nas praias de Domingas Dias e Itaguá, nas coletas de verão e inverno.	50
Figura 19: Densidade média e desvio padrão das densidades de bactérias heterotróficas no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).	51
Figura 20: Densidade média e desvio padrão das densidades de cianobactérias no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).	52
Figura 21: Densidade média e desvio padrão das densidades de nanoflagelados heterótrofos no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).	53
Figura 22: Densidade média e desvio padrão das densidades de nanoflagelados autótrofos no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).	54
Figura 23: Densidade média e desvio padrão das densidades de organismos percententes ao microplâncton heterótrofo no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).	55
Figura 24: Densidade média e desvio padrão das densidades de organismos percententes ao microplâncton autótrofo no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).	56
Figura 25: Correlações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com os valores de temperatura do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.	59
Figura 26: Correlações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com os valores de matéria orgânica do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.	61
Figura 27: Correlações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com as densidades de <i>Enterococcus</i> sp. do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.	63
Figura 28: Correlações entre as densidades dos indicadores de contaminação fecal e a matéria orgânica do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores das porcentagens de matéria orgânica presente nas praias de Domingas Dias e Itaguá.	37
Tabela 2: Valores das correlações entre as densidades de microrganismos encontradas nas areias das praias de Domingas Dias e Itaguá.	57

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1. Áreas de Estudo	20
3.2. Coleta de Amostras	22
3.3. Indicadores de Contaminação Fecal	23
3.4. Granulometria e Matéria Orgânica	24
3.5. Contagem Direta de Microrganismos	25
3.6. Análises Estatísticas	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Fatores Abióticos	29
4.2. Indicadores de Contaminação Fecal	31
4.3. Granulometria e Matéria Orgânica	36
4.4. Contagem Direta de Microrganismos	38
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
6. REFERÊNCIAS	68

1. INTRODUÇÃO

A compreensão do papel dos microrganismos nos fluxos da matéria e da energia dos ecossistemas marinhos tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas. Os estudos da ecologia microbiana marinha iniciaram-se com a descoberta das vias dinâmicas da utilização da matéria orgânica dissolvida produzida nos oceanos, destacando-se o papel dos organismos de menor tamanho dentro das comunidades planctônicas (POMEROY, 1974), como o picoplâncton heterótrofo (bactérias), o picoplâncton autótrofo (cianobactérias e proclorofitas), os protozoários heterótrofos (nanoplâncton, i.e., organismos entre 2 e 20µm) e os vírus. Entretanto, muitos estudos ainda se fazem necessários sobre como essa cadeia funciona em ambientes impactados.

Até 1974, bactérias, cianobactérias e outros microrganismos eram considerados componentes quali e quantitativamente pouco importantes na cadeia alimentar marinha e os conhecimentos sobre a produtividade e a dinâmica biogeoquímica dos oceanos não levavam em conta os microrganismos da biota pelágica (STEELE, 1974). Bactérias eram, à semelhança do que ocorria no ambiente terrestre (MACFAYDEN, 1964), consideradas exclusivamente remineralizadoras e responsáveis por converter matéria orgânica em inorgânica, reciclando nutrientes para os produtores primários.

O surgimento de técnicas mais precisas para o estudo de populações microbianas entre as quais, a contagem direta por microscopia de epifluorescência (HOBBIE et al., 1977), propiciou novos conhecimentos a respeito da densidade e da distribuição de bactérias, cianobactérias e nanoheterótrofos nos ecossistemas marinhos.

Em relação às bactérias heterotróficas, descobriu-se que, na zona eufótica, elas ocorrem em densidades da ordem de 10^6 células ml^{-1} e representam, aproximadamente, 20% do carbono total (HOBBIE et al., 1977). Em águas costeiras, sua produção pode ser correspondente a até 30% da produção primária.

O picoplâncton autotrófico (<2,0µm), dominado por cianobactérias dos gêneros *Synechococcus* e por proclorofitas do gênero *Prochlorococcus*, ocorre na coluna de

água, na ordem de 10^5 células ml^{-1} e é responsável pela maior parte da produção primária e da biomassa fitoplanctônica em muitas regiões dos oceanos (FOGG, 1995; GAETA et al., 1995). Além de servir de alimento para nanoflagelados heterótrofos (CARON et al., 1991; FERNANDES, 2000; MONGER et al., 1999).

Protozoários flagelados, na classe de tamanho do nanoplâncton, ocorrem em densidade de 10^3 células ml^{-1} e são os maiores predadores do picoplâncton autótrofo e heterótrofo, além de ter papel significativo na remineralização de nutrientes (PEREIRA, C.R., 2011).

A partir destes novos conhecimentos obtidos a respeito das populações de menor tamanho, surgiram novos conceitos sobre o papel dos microrganismos na estrutura trófica marinha.

As interações tróficas entre os menores componentes de uma cadeia alimentar foram descritas por Azam et al. (1983) em um modelo denominado alça microbiana. De acordo com este modelo, que integrou os microrganismos à cadeia alimentar clássica, a matéria orgânica dissolvida, principalmente de origem fitoplanctônica, é utilizada por bactérias heterotróficas para seu crescimento. Não sendo a matéria orgânica dissolvida limitante para o crescimento bacteriano, a densidade desta população é mantida dentro de limites restritos através da bacterivoria por nanoflagelados heterótrofos de tamanho entre 2,0 e 8,0 μm . Cianobactérias, por estarem na mesma classe de tamanho de bactérias, também são utilizadas como alimento por nanoflagelados (PEREIRA, 2011). Estes por sua vez, são predados por ciliados e outros organismos do microzooplâncton. O microzooplâncton serve de alimento ao zooplâncton de maior tamanho, que por sua vez é consumido por organismos de níveis tróficos superiores (AZAM et al., 1983).

Algum tempo depois, Sherr & Sherr (1988) afirmaram que a estrutura trófica do pelagial era mais complexa do que a concebida por Azam et al. (1983). De acordo com estes autores a alça microbiana era parte de um sistema onde procariontes e eucariontes, autótrofos, heterótrofos e mixotróficos, interagindo de forma complexa constituindo o que denominaram de rede microbiana.

Os vírus somente foram incorporados aos modelos de alça microbiana posteriormente. Embora a presença de partículas virais nos ecossistemas aquáticos

fosse conhecida há algum tempo, seu significado ecológico nos ambientes aquáticos foi subestimado até concluírem que os vírus são parte integrante e importante do ecossistema marinho, influenciando a abundância, a distribuição e a composição de espécies da comunidade microbiana além de alterar o fluxo de matéria e de energia na alça microbiana (SUTTLE, 1994; FUHRMAN & NOBLE, 1995; BRATBAK & HELDAL, 2000; THINGSTAD, 2000).

Atualmente sabe-se que a biomassa total de bactérias no oceano excede a biomassa de zooplâncton e de peixes somadas, e que a teia alimentar microbiana apresenta de cinco a dez vezes a massa de todos os organismos multicelulares marinhos (DUCKLOW, 1999; POMEROY, 2004; ROBINSON & WILLIAMS, 2005; POMEROY et al., 2007).

A variabilidade temporal das populações microbianas é atribuída a fatores diversos tanto de natureza físico-química quanto biológica. Em geral, a discriminação dos diversos fatores atuantes e a determinação dos mais relevantes nas variações discerníveis das populações naturais é complexa. Todavia, nas situações de co-variações positivas e negativas, entre fatores bióticos e abióticos e as populações em questão, é possível inferir sobre a importância de um determinado fator (MESQUITA & FERNANDES, 1998).

No caso das bactérias, cianobactérias, nanoflagelados e dos vírus, a densidade e a distribuição dos mesmos, no ambiente marinho, depende de vários fatores, alguns relacionados ao status trófico do sistema, e outros, à interação predador-presa (ANDERSEN & FENCHEL, 1985) ou à relação parasita-hospedeiro. A estrutura hidrodinâmica do ecossistema também interfere significativamente na distribuição espaço-temporal dos microrganismos (POMEROY et al., 1983).

Além dos microrganismos marinhos autóctones que compõe a alça microbiana, microrganismos antropogenicamente introduzidos, podem estar presentes em águas marinhas costeiras, pois, em muitas regiões litorâneas, os esgotos domésticos são lançados diretamente ao mar. Esses lançamentos ocorrem sem qualquer tipo de tratamento, levando com eles uma variedade de organismos (WHO, 2003).

Outros fatores podem propiciar a presença de microbiota alóctone no ambiente marinho como o dimensionamento inapropriado de emissários e sistemas de

tratamento de esgotos, a existência de ligações inadequadas da rede de esgoto à rede pluvial, a existência de córregos fluindo ao mar, a ocorrência de chuvas e as condições de maré (CETESB, 2004).

A presença e a permanência de bactérias alóctones em ecossistemas marinhos, incluindo sedimentos e areias de praias, são relevantes não apenas do ponto de vista ecológico, mas também quando considerada a saúde pública já que muitas espécies bacterianas lançadas com os efluentes domésticos são patógenos em potencial (AYO et al., 2001).

As areias de praias também são habitats de vários microrganismos, tanto autóctones quanto alóctones (SMAC, 2000). Bactérias, inclusive bactérias fecais (LALIBERTE & GRIMES, 1982; OBIRI & JONES, 2000), podem sobreviver mais tempo na areia das praias e em sedimentos, ao contrário das bactérias livres na água, pois podem se aderir a partículas do sedimento (WHITMAN & NEVERS, 2003). Devido à alta quantidade de detritos orgânicos associados a estas partículas, bactérias podem sobreviver neste ambiente por longos períodos (BURTON et al., 1987; CHAN et al., 1979; DARAKAS, 2002; LALIBERTE & GRIMES, 1982) por encontrarem condições favoráveis de nutrientes (BRUNKE & FISCHER, 1999; DAVIES et al., 1995; VILLAR et al., 1999), proteção contra a luz solar (DAVIES-COLLEY et al., 1999; SINTON et al., 1994) e contra a predação por protozoários (DAVIES & BAVOR, 2000).

Embora tenham sido realizados trabalhos sobre a estrutura e o funcionamento da alça microbiana em ambientes marinhos e sobre a presença de bactérias indicadoras de contaminação fecal na água do mar e nos sedimentos e areias de praias, poucos têm examinado a interação da microbiota autóctone (via alça microbiana) com a microbiota alóctone.

O crescente desenvolvimento do turismo nos municípios litorâneos nas últimas décadas, principalmente decorrente de atividades recreacionais, tais como natação, mergulho, esportes náuticos e pesca, gera diversos impactos ambientais, aos quais, apenas recentemente, tem-se dedicado a devida atenção (CETESB, 2006). Dentre os diversos impactos que ocorrem nestes ambientes, o enriquecimento orgânico causado, principalmente, pelos esgotos, pode levar a várias mudanças (WEISS &

WILKES, 1974), como alterar a microbiota (BARLOW et al., 1963; WEISS & WILKES, 1974) e também mudar drasticamente a estrutura de comunidades bentônicas e pelágicas, afetando os ciclos biogeoquímicos (MANN, 1982).

A contaminação fecal de águas marinhas e areias de praias determina a qualidade microbiológica destes ambientes, deste modo a qualidade microbiológica de uma praia é denominada de balneabilidade.

Atualmente, as bactérias do gênero *Enterococcus* são consideradas melhores indicadoras de contaminação fecal de águas marinhas e de areias de praias (ALM et al., 2003) que as anteriormente utilizadas para tal, que são a *Escherichia coli* e a *Candida albicans* (MENDES et al., 1993; VIEIRA et al., 2001), sendo portanto utilizadas na maior parte dos estudos sobre a contaminação de praias e/ou no monitoramento da qualidade das mesmas.

As bactérias do gênero *Enterococcus* pertencem ao grupo dos estreptococos fecais, se caracterizam por tolerarem condições adversas de crescimento como crescimento na presença de 6,5% de cloreto de sódio, pH a 9,6, temperaturas de 10 a 45°C e sobrevivem por até 30 minutos a 60°C (HARWOOD et al., 2000; HANCOCK & GILMORE, 2006). São negativas à catalase, cocos Gram-positivos que aparecem em cadeias curtas, aos pares, ou como único coco. Eram incluídas no gênero *Streptococcus* até 1984, quando Schleifer e Kilpper-Balz através de técnicas de hibridização de DNA determinaram que *Enterococcus* sp. e *Streptococcus* sp. eram muito distintos para serem classificados no mesmo gênero (TENG et al., 2002). A maioria das espécies dos *Enterococcus* sp. é de origem fecal humana, podem ser encontrados no trato gastrointestinal de muitas espécies de animais homeotermos e podem causar várias infecções, como as do trato urinário, bacteremias nosocomiais, endocardite e infecções de feridas, entre outras (HUYCKE et al., 1998; D'AZEVEDO et al., 2004; HANCOCK & GILMORE, 2006; MURRAY, 1990; MURRAY, 1998).

As condições de balneabilidade das praias do estado de São Paulo são monitoradas pela CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - para atender a Resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) nº274/00 (BRASIL, 2001), na qual estão definidos os critérios para a classificação de águas destinadas à recreação de contato primário. De acordo com as densidades

encontradas de coliformes fecais ou *Escherichia coli*, as praias podem ser classificadas em quatro categorias: Excelente, Muito Boa, Satisfatória e Imprópria, sendo que as três primeiras são agrupadas em uma classificação denominada Própria. Para que a praia seja classificada como Imprópria é necessário que apresente pelo menos uma das seguintes situações: densidades de coliformes fecais superiores a 1000 NMP100ml⁻¹, densidades de *Escherichia coli* superiores a 800 UFC100ml⁻¹ ou densidades de *Enterococcus* sp. superiores a 100 UFC100ml⁻¹ em duas ou mais amostras de um conjunto de cinco amostragens consecutivas; ou densidades de coliformes fecais superiores a 2500 NMP100ml⁻¹, densidades de *Escherichia coli* superiores a 2000 UFC100ml⁻¹ ou densidades de *Enterococcus* sp. superiores a 400 UFC100ml⁻¹ na última análise semanal realizada. Quando a praia é classificada como Imprópria, a saúde do banhista pode ser comprometida, sendo assim, é desaconselhável a sua utilização para contato primário (CETESB, 2013).

A Balneabilidade das praias está diretamente relacionada a vários fatores como as condições de infra-estrutura de saneamento básico, crescimento populacional, afluxo de turistas e condições climáticas como os índices de pluviosidade (CETESB, 2013). Os municípios litorâneos de São Paulo, em sua maioria, apresentam um crescimento populacional maior do que a média estadual. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a estimativa da população do município de Ubatuba para o ano de 2013 foi de 84.377 pessoas, apresentando um crescimento populacional de aproximadamente 11,6% nos últimos 10 anos e 4,7% do ano de 2012 para 2013 (IBGE, 2013). Porém, é importante salientar que a população flutuante, em meses de férias, festas e feriados, pode ser maior do que a população local. O saneamento básico na região litorânea no geral é bem defasado quanto a sua estrutura e alcance do crescimento da população, sendo que a média de coleta de esgotos entre esses municípios é de 56%, e no município de Ubatuba é de 38,5% (SABESP, 2014).

Quanto à qualidade das areias de praias, atualmente há uma grande preocupação devido à falta de uma padronização dos limites dos indicadores de contaminação fecal. A CETESB realiza estudos desde 2009 para avaliar a qualidade das areias de praias, mas somente no período de alta temporada, e no caso do município de Ubatuba apenas em duas praias, Grande e Tenório (CETESB, 2013). A

resolução CONAMA nº 274/2000 (BRASIL, 2001) além de estabelecer os padrões de balneabilidade também recomenda que os órgãos ambientais devem realizar avaliações não só das condições microbiológicas como também parasitológicas das areias para futuras padronizações. Alguns estudos foram realizados e neles sugeridos padrões de limites para os indicadores de contaminação fecal, porém há uma ampla variação nos valores propostos (MENDES et al., 1993; ABAE, 2008; SMAC, 2010).

Visto que a contaminação das areias de praias pode afetar a qualidade da água do mar, assim como a degradação ambiental, podem ter seus efeitos propagados por toda a cadeia trófica marinha e, como consequência, podem afetar os ciclos de matéria e energia nas mesmas, é necessário ter uma abordagem diferente sobre a poluição marinha, não apenas detectando-a ou estabelecendo limites para a saúde humana, mas analisando seus impactos de forma ecossistêmica. Além disso, no Brasil o conhecimento sobre a ecologia microbiana de ecossistemas marinhos é restrito a alguns trabalhos sobre a distribuição, densidade e produção de microrganismos em águas costeiras do sudeste (PEREIRA, 2011; FERNANDES & MESQUITA, 1991a,b; MESQUITA, 1993; MESQUITA & FERNANDES, 1996; ANDRADE et al., 2004; GONZALEZ et al., 2000) e da região Sul (ABREU & ODEBRECHT, 1995; KOLM et al., 2002; KOLM & ANDRETTA, 2003). Poucos estudos têm abordado a estrutura e a dinâmica da alça microbiana (ABREU et al., 1992; FERNANDES, 1995; MESQUITA & FERNANDES, 1998; OLIVEIRA, 2000; MARTINEZ, 2009).

Deste modo, considerando o que foi apresentado sobre o papel dos microrganismos nos ecossistemas costeiros, é de significativa importância a realização de estudos que contribuam para o conhecimento do funcionamento da alça microbiana em areias de praias, comparando ambientes mais e menos impactados.

2. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram:

- Determinar as variações nas densidades populacionais de bactérias heterotróficas, cianobactérias, nanoflagelados heterótrofos e autótrofos, e microplâncton heterótrofo e autótrofo das areias de duas praias do município de Ubatuba com diferentes graus de poluição.
- Determinar as densidades de *Enterococcus* sp. e *Escherichia coli* a fim de verificar relações com a dinâmica e a estrutura da alça microbiana em areias de praias com diferentes graus de poluição.
- Estudar a relação entre as densidades desses microrganismos com fatores abióticos, tais como: temperatura, granulometria e matéria orgânica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Áreas de Estudo

Com aproximadamente 880 km de extensão de linha de costa, o litoral do estado de São Paulo abrange 16 municípios e uma área total de 7.759 km² (TARIFA et al., 2001). É cortado pelo Trópico de Capricórnio, o que lhe confere uma transição entre os Climas Tropicais Úmidos de Altitude e os Subtropicais, sendo assim, os meses de verão são períodos com chuvas intensas enquanto que nos outros meses são mais secos. Porém, devido à proximidade da Serra do Mar que impede a umidade formada sobre o oceano, a ocorrência de chuvas intensas em períodos de seca é comum nessa localização (CETESB, 2013).

O litoral norte do estado de São Paulo possui uma planície muito estreita com áreas de intensa e contínua ocupação, especulação e valorização imobiliária. Compreende quatro municípios, sendo eles São Sebastião, Ilhabela, Caraguatatuba e Ubatuba, com 184 praias e uma área de 1943 km² (CETESB, 2013). O clima é controlado predominantemente por massas equatoriais e tropicais. A proximidade da Serra do Mar junto à costa é responsável pela alta umidade e acentuada pluviosidade mesmo em períodos de inverno (SMA, 2006).

O município de Ubatuba, com 711km² de área, possui aproximadamente 80% do território inserido no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), o qual foi criado em 30 de agosto de 1977 através do Decreto 10.251 (SMA, 2006).

O saneamento básico do município não abrange a totalidade de esgoto produzido pela população, portanto ocorre o lançamento direto de efluentes domésticos nos coletores de água pluvial. Este evento pode ocasionar tanto mudanças na balneabilidade das praias do município quanto doenças de veiculação hídrica como esquistossomose e hepatite. Além do saneamento básico insuficiente, o aumento da população flutuante em períodos de alta temporada, juntamente ao crescimento descontrolado da urbanização, podem agravar este quadro, gerando impactos à biodiversidade (SMA, 2006) e de saúde pública.

A CETESB realiza monitoramento em 26 pontos do município de Ubatuba, sendo eles localizados em 23 praias e um no Rio Itamambuca, abrangendo 31% do

total das praias desse município. Em 2012, 65% das praias permaneceram Próprias durante o ano, sendo que 27% delas receberam classificação anual Ótima. Somente duas praias tiveram classificação anual Ruim, Itaguá e Perequê-Mirim (CETESB, 2013).

As coletas foram realizadas em duas praias com diferentes graus de poluição localizadas no município de Ubatuba (Fig. 1), a praia de Itaguá ($23^{\circ} 27' 23,78''$ S / $45^{\circ} 03' 36,15''$ W) e a praia Domingas Dias ($23^{\circ} 29' 51.89''$ S / $45^{\circ} 8' 40.65''$ W).



Figura 1: Mapa mostrando os pontos de coleta nas praias de Domingas Dias (ponto 1) e Itaguá (ponto 2), localizadas no município de Ubatuba (Fonte: <http://www.google.com/maps> (consultado em 05/01/14)).

As praias foram escolhidas de acordo com as classificações de balneabilidade dadas à elas durante os últimos anos, sendo que a praia de Domingas Dias prevaleceu a classificação própria e a praia de Itaguá como imprópria.

A praia de Domingas Dias possui aproximadamente 400 metros de extensão e obteve classificação anual Ótima em 2012, sendo que em 100% das coletas obteve classificação Excelente (CETESB, 2013). O acesso para esta praia é através do Condomínio Pedra Verde.

A praia de Itaguá é localizada no centro de Ubatuba, é monitorada em dois pontos pela CETESB. Os pontos de monitoramento obtiveram classificação anual Ruim e Regular no ano de 2012, sendo que o ponto que obteve classificação Ruim é próximo ao ponto em que foram coletadas as amostras da praia de Itaguá neste trabalho. Além disso, esta praia possui um Cais de Porto e está localizada em um centro urbano com uma grande rede de comércio e turismo.

3.2. Coleta de Amostras

Foram realizadas quatro coletas em cada praia, sendo que duas coletas foram no período de inverno e as outras duas no período de verão. Tanto nas coletas de verão como nas de inverno, amostras de sedimento foram coletadas de 4 em 4 horas para a determinação da densidade de *Enterococcus* sp., bem como para a avaliação das flutuações nas densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana. Também foram realizadas coletas para a determinação da granulometria e do conteúdo de matéria orgânica do sedimento. Em ambas as campanhas foram colhidas amostras de sedimento da região intertidal, que é a região que sofre maior influência das marés. As amostras foram coletadas com luvas estéreis (Figura 2), acondicionadas em sacos também estéreis e transportadas sob refrigeração para o laboratório de Microbiologia Marinha da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus do Litoral Paulista – Unidade São Vicente, onde foram realizadas as

análises. Além disso, foram obtidas as temperaturas do sedimento através de um termômetro imerso por 10 minutos (ALONGI, 1988) (Figura 2).



Figura 2: Coleta de amostras de sedimento e obtenção da temperatura.

3.3. Indicadores de Contaminação Fecal

As densidades de *Enterococcus* sp. e de *Escherichia coli* foram determinadas utilizando-se a técnica de membrana filtrante (APHA, 1999). No laboratório, com o auxílio de uma espátula estéril, as amostras de areia foram pesadas em balança analítica, acondicionadas em erlenmeyers, acrescidas de água destilada (1:10) e submetidas à 2 agitações, com períodos de 10 minutos cada, em um agitador Kline, para lavar e extrair as bactérias das amostras.

Após a extração, volumes de 1; 5; 10 e 50 mL do sobrenadante foram retirados e filtrados em membranas de 0,45µm de porosidade, as quais foram depositadas em placas contendo meio de cultura Agar mEnterococcus e Agar m-Tec para a determinação das densidades de *Enterococcus* sp. e *E. coli* respectivamente (Becton Dickinson Laboratories).

As placas de Agar mEnterococcus foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24/48h. Após este período, as colônias de coloração vermelho-marrom

foram contadas como *Enterococcus* sp. As placas contendo Agar m-Tec foram incubadas durante duas horas a 35°C para a aclimação das células. Após este período estas placas foram submetidas à temperatura de $44,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24/48h. As colônias de coloração amarelada foram contadas como sendo *Escherchia coli*.

Para a confirmação do gênero *Enterococcus*, algumas colônias consideradas nas contagens e escolhidas aleatoriamente foram repicadas para tubos de ensaio contendo o meio de cultura Enterococcosel Caldo e incubadas a 37°C por 24/48h. Os tubos que apresentaram enegrecimento do meio foram considerados positivos.

As colônias contadas como *E. coli* foram confirmadas utilizando o substrato de uréia. Essa confirmação consistiu em transferir as membranas para uma placa contendo um “pad” embebido em substrato de uréia. Como *E. coli* não possui capacidade de hidrolisar a uréia, as colônias mantêm assim sua coloração, portanto as colônias que mantiveram a coloração amarelada foram identificadas como pertencentes a essa espécie. As densidades bacterianas foram expressas em unidades formadoras de colônias por 100 g de sedimento.

3.4. Granulometria e Matéria Orgânica

As análises do conteúdo de matéria orgânica e da granulometria foram realizadas de acordo com Mahiques (1987). Amostras de sedimento foram colocadas em béquers com água deionizada e após a decantação do sedimento, a água foi retirada com o auxílio de uma pisseta e outra água foi adicionada ao béquer. Este procedimento foi realizado cinco vezes para a remoção dos sais do sedimento. Após a lavagem, o sedimento foi levado à estufa a 60°C para secagem. O sedimento seco foi pesado para a obtenção da massa total. Com o uso de uma peneira de malha 0,063 mm o sedimento foi lavado para a eliminação do silte e argila, e então levado novamente à estufa a 60°C para a secagem. Após a secagem o sedimento ficou pronto para as análises de granulometria e matéria orgânica.

Para a obtenção das quantidades de matéria orgânica (GROSS, 1971), amostras de sedimento seco foram pesadas e colocadas em cadinhos de porcelana

previamente pesados e calcinados. Os cadinhos foram levados à mufla à 500°C por quatro horas e logo após colocados no dessecador até que atingissem a temperatura ambiente para que os cadinhos fossem pesados novamente. A quantidade de matéria orgânica foi obtida através da diferença entre o peso inicial e final.

Para as análises da granulometria, amostras de sedimento seco foram colocadas sobre um conjunto de peneiras sobrepostas com malhas decrescentes (1,18 mm; 0,6 mm; 0,25 mm; 0,125 mm e 0,063mm) por 10 minutos sob agitação constante de 6 Hz. Os sedimentos os quais ficaram em cada peneira foram pesados e posteriormente calculadas as porcentagens de cada tamanho de grão (SUGUIO, 1973).

3.5. Contagem Direta de Microrganismos

As densidades populacionais de bactérias heterotróficas, cianobactérias, nanoheterótrofos, nanoautótrofos, microheterótrofos e microautótrofos foram obtidas através do método de contagem direta de microrganismos por microscopia de epifluorescência (Figura 3). Todos os procedimentos de microscopia foram feitos segundo (HOBBIE et al., 1977) e contagem realizada em microscópio de epifluorescência, marca Nikon Eclipse 50i. Para a extração dos microrganismos do sedimento, as amostras foram pesadas em balança analítica, acondicionadas em erlenmeyers, acrescidas de água destilada (1:10) e submetidas à 2 agitações, com períodos de 10 minutos cada, em um agitador Kline, da mesma maneira realizada para *Enterococcus* sp. Em seguida, volumes do sobrenadante foram retirados e armazenados em frascos estéreis e os microrganismos foram fixados com a adição de formaldeído a uma concentração final de 5%. Os frascos foram refrigerados para posterior determinação das densidades dos microrganismos.

Para a contagem de bactérias heterotróficas, alíquotas das amostras fixadas com formaldeído foram colocadas em tubos de ensaio e coradas durante 10 minutos, na penumbra, utilizando-se o fluorocromo DAPI (4'-6-Diamino - 2-fenolindol) (solução de trabalho 5 µg/ml) segundo Porter & Feig (1980). Após os 10

minutos, os conteúdos foram filtrados em membranas Nucleopore Black de 0,2 μm de porosidade. As membranas foram dispostas em lâminas, foi adicionada uma gota de óleo mineral em cima de cada membrana e colocadas lamínulas sobre elas. As lâminas foram, então, observadas sob luz ultravioleta (PORTER & FEIG, 1980).

Para a contagem de cianobactérias as amostras foram filtradas em membrana Nucleopore Black de 0,2 μm , dispostas em lâminas e observadas sob luz verde, que ao excitar a célula provoca a fluorescência dos seus pigmentos fotossintéticos (WATERBURY et al.,1987).

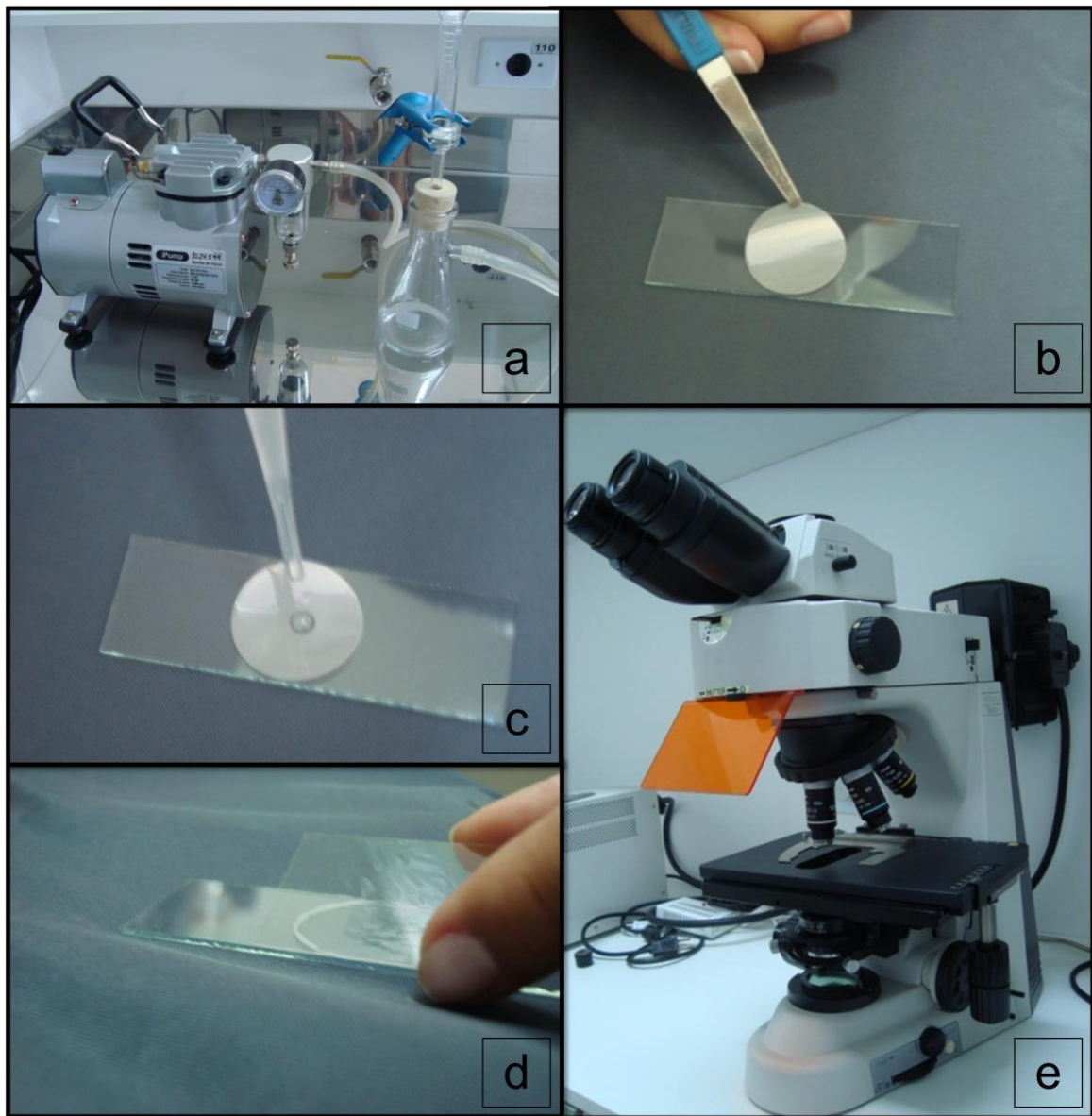


Figura 3: Método de Contagem Direta por Microscopia de Epifluorescência. Equipamento de filtração (a); Membrana Nucleopore Black disposta em lâmina (b); Adição de óleo mineral sobre a membrana (c); Lamínula colocada sobre a lâmina (d) e Microscópio de Epifluorescência Nikon Eclipse 50i (e).

Como os principais predadores de bactérias são os nanoheterótrofos menores que 8,0µm (SHERR et al., 1986; CARON et al., (1991), para a contagem de nanoflagelados heterótrofos, primeiramente alíquotas das amostras foram passadas em membranas Nucleopore de 8,0µm de porosidade para remoção dos microrganismos maiores. O filtrado foi, então, corado por 10 minutos em tubo de ensaio com a solução preparada de DAPI e filtrado em membrana Nucleopore Black de 2,0µm de porosidade (FENCHEL, 1982). As membranas foram dispostas em lâminas e observadas também sob luz ultravioleta. As densidades foram estimadas após a contagem mínima de 30 campos microscópicos, dependendo da concentração de cada amostra.

Para a contagem de nanoflagelados autótrofos o processamento das amostras foi o mesmo e o filtrado foi utilizado para a filtração em membrana Nucleopore Black de 2,0µm de porosidade sem adição de corantes (FENCHEL, 1982). Estes foram observados, então, em relação à autofluorescência dos pigmentos fotossintéticos (WATERBURY et al., 1987) sob a luz verde.

Para a contagem do microplâncton heterótrofo, primeiramente alíquotas foram filtradas em membranas nucleopore de 80,0µm de porosidade para retirar os organismos maiores. O filtrado foi corado durante 10 minutos em um tubo de ensaio com a solução preparada de DAPI. Posteriormente foi filtrado em membrana nucleopore com 8,0µm de porosidade. Para a análise do microplâncton autótrofo o preparo ocorreu de maneira semelhante ao preparo para o microplâncton heterótrofo, somente com a diferença de não ter sido realizada a coloração com a solução de DAPI, uma vez que estes organismos serão observados em relação à autofluorescência dos seus pigmentos fotossintéticos (WATERBURY et al., 1987) sob a luz verde.

3.6. Análises Estatísticas

Foi realizado teste T-Student para detectar diferenças entre as temperaturas do sedimento da praia de Domingas Dias e Itaguá. A fim de inquirir relações entre os dados encontrados, foram realizadas análises de regressão e correlação de Pearson

nas quais os dados de temperatura, matéria orgânica e indicadores de contaminação fecal foram considerados como variáveis independentes, e a densidade dos microrganismos no sedimento como variável dependente. Também foram realizadas análises considerando os dados de matéria orgânica como variável independente, e as densidades dos indicadores de contaminação fecal como variáveis dependentes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Fatores Abióticos

Os valores mínimos, médios e máximos das temperaturas do sedimento estão representados na Figura 4. Verão I e Verão II representam a primeira e segunda coletas realizadas no período de verão, Inverno I e Inverno II representam a primeira e segunda coletas realizadas no período de inverno.

Nas coletas de verão a temperatura do sedimento variou de 18 a 36°C na Praia de Domingas Dias e de 17 a 35°C na Praia de Itaguá, enquanto que nas coletas de inverno a temperatura variou de 17 a 28°C na Praia de Domingas Dias e de 17 a 33°C na Praia de Itaguá.

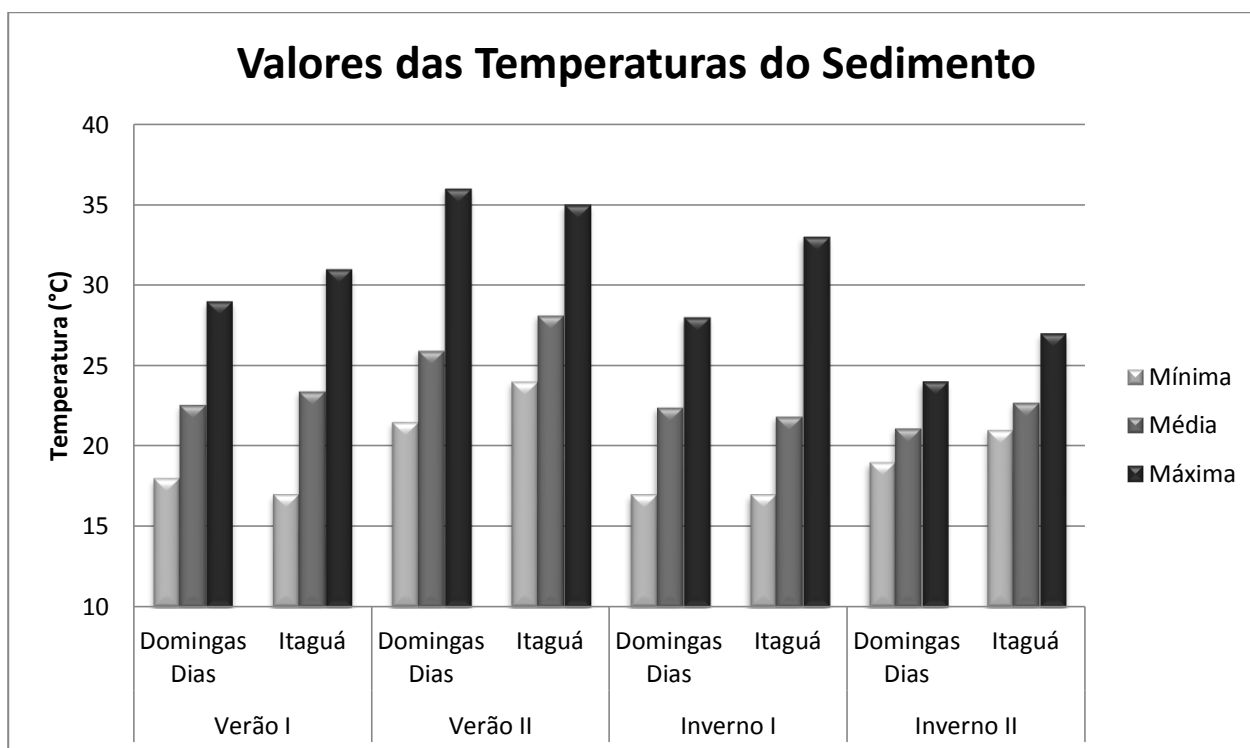


Figura 4: Valores mínimos, médios e máximos de temperatura do sedimento.

Tanto nas coletas de verão quanto nas de inverno, foi possível observar uma tendência de variação temporal das temperaturas do sedimento durante o período de coleta, com baixas temperaturas no período noturno e aumento no período diurno (Figura 5), à exceção da primeira coleta de inverno, na praia Domingas Dias, no

horário 15:45h. Esta diferença é devida, provavelmente, ao fato de no momento da coleta na praia de Domingas Dias haver incidência de Sol sobre o local da amostragem, enquanto que na praia de Itaguá o ponto de amostragem estava sombreado.

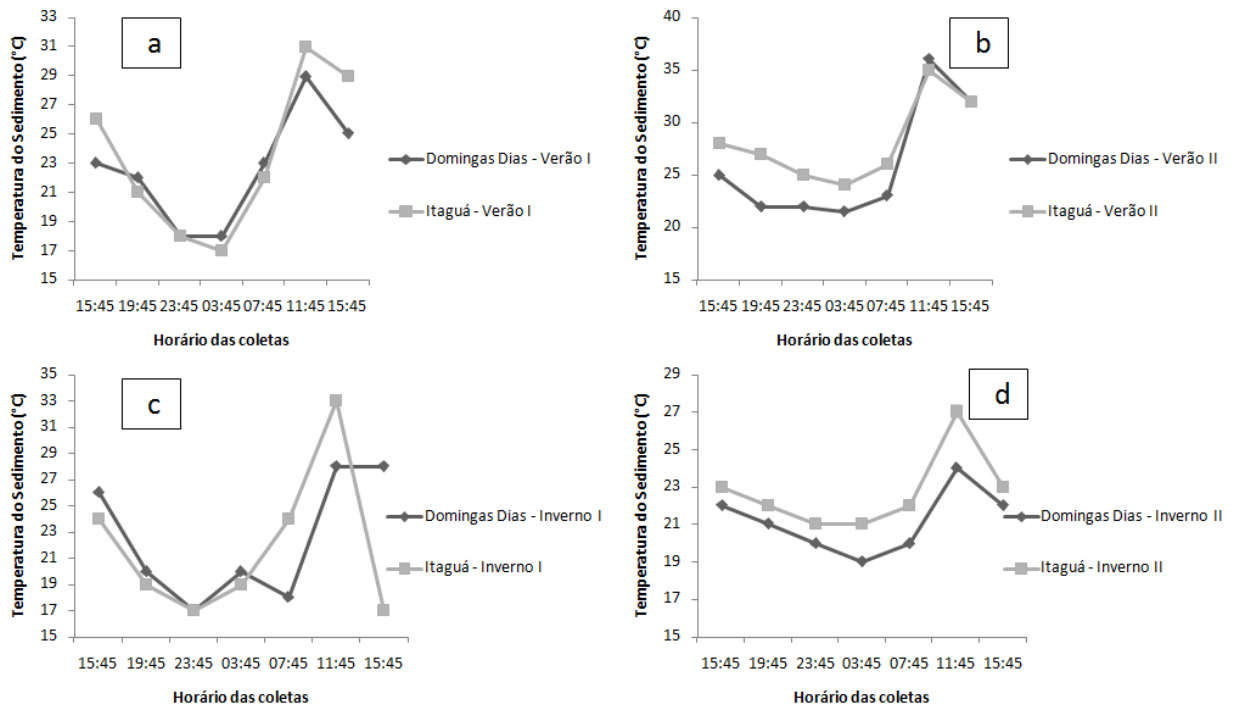


Figura 5: Valores de temperatura observados na primeira coleta de verão (a), na segunda coleta de verão (b), na primeira coleta de inverno (c) e na segunda coleta de inverno(d) nas praias de Domingas Dias e Itaguá no período de 24 horas.

Comparando as duas praias os maiores valores de temperatura foram obtidos na praia de Itaguá, à exceção da segunda coleta de Verão em que o valor mais alto de temperatura foi obtido na praia de Domingas Dias. Porém, na Figura 4 é possível perceber que mesmo com o fato de o maior valor na segunda coleta de verão ter sido atingido na praia de Domingas Dias, a média de temperatura de Itaguá foi maior do que na praia de Domingas Dias.

De maneira geral, as médias de temperatura na praia de Itaguá foram maiores que as obtidas na praia de Domingas Dias. Este resultado pode ter relação com a vegetação encontrada na praia de Domingas Dias e a ausência da mesma na praia de Itaguá. Para chegar à Praia de Domingas Dias, é necessário entrar por um condomínio fechado com algumas construções próximas à praia, mas mesmo com

essas construções há uma quantidade razoável de vegetação de restinga, o que pode ter sido suficiente para proporcionar uma menor temperatura em alguns momentos de coleta nos quais o ponto esteve sombreado. Além disso, a praia de Domingas Dias por ser uma praia um pouco mais exposta, pode sofrer maior ação dos ventos do que a praia de Itaguá.

Em todas as coletas os picos dos valores das temperaturas do sedimento foram obtidos no horário 11:45h (Figura 5), devido à maior incidência dos raios solares neste momento. Já os valores mais baixos foram encontrados às 3:45h, com exceção da primeira coleta de Inverno em ambas as praias, nas quais os menores valores foram encontrados às 23:45h. Provavelmente essa diferença se deu devido ao fato de, neste horário, a velocidade do vento estar muito alta em relação aos outros horários de coleta em que havia apenas uma leve brisa.

Não houve diferenças significativas entre os valores de temperatura do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá ($p=0,07$).

4.2. Indicadores de Contaminação Fecal

A utilização de indicadores de contaminação fecal como fator classificatório de qualidade das praias do litoral de São Paulo tem sido realizada desde 1974 pela CETESB, a qual utilizava os parâmetros definidos pela Portaria 01/1974 da Secretaria Especial do Meio Ambiente e hoje atende a Resolução CONAMA nº 274/2000. Porém, esta avaliação é realizada até hoje somente a partir de análises da água do mar e não das areias das praias.

Uma vez que os grãos de areia oferecem um micro-habitat propício à sobrevivência de microrganismos (GHINSBERG et al., 1994), devido à alta quantidade de detritos orgânicos associados a essas partículas, bactérias podem sobreviver neste ambiente por longos períodos (LALIBERTE & GRIMES, 1982), por encontrarem condições favoráveis de nutrientes (GHINSBERG et al., 1994), proteção contra a luz solar (SINTON et al., 1994) e contra a predação por protozoários (DAVIES e BAVOR, 2000). Sendo assim, mesmo em uma praia que

tenha a classificação própria para o contato primário, o banhista pode estar correndo sérios riscos de contrair doenças no contato com este ambiente. Além disso, os banhistas tendem a gastar a maior parte de seu tempo em contato com a areia e a ressuspensão de sedimento que contém altas densidades de microrganismos pode contribuir significativamente para que os microrganismos acumulados na areia sejam liberados para a coluna de água (LALIBERT & GRIMES, 1982) trazendo riscos à saúde dos banhistas.

Vários trabalhos mostram que as densidades de indicadores de contaminação fecal, assim como outros microrganismos, são no geral bem maiores do que as encontradas na água do mar (OLIVEIRA & PINHATA, 2007; PINTO & OLIVEIRA, 2011, PASSOS et al., 2011; PINTO et al., 2012), as quais são utilizadas para a avaliação da balneabilidade. Mas a falta de padronização dos limites máximos de indicadores de contaminação fecal para as areias de praias dificulta analisar a qualidade efetiva deste ambiente utilizado para contato primário pelos banhistas.

Em Portugal um estudo realizado por Mendes et al. (1993) foi sugerido um valor para coliformes termotolerantes de 100.000 UFC100g⁻¹ de sedimento e para *Enterococcus* sp. de 10.000 UFC100g⁻¹ de sedimento. Já no trabalho realizado pela Associação Bandeira Azul da Europa (ABAE, 2008), os valores propostos foram de 2.000 UFC100g⁻¹ de sedimento, tanto de *Escherichia coli* quanto para *Enterococcus* sp. Através de uma Resolução da Secretaria Municipal do Meio Ambiente (SMAC nº 468/2010), a prefeitura do Rio de Janeiro estabeleceu os limites máximos de 3800 NMP *Escherichia coli* 100g⁻¹ de sedimento como indicador de contaminação fecal das areias para recreação de contato primário.

Na Figura 6 estão representadas as flutuações das densidades de *Enterococcus* sp. e *Escherichia coli* encontradas nas areias das praias de Domingas Dias e Itaguá nas coletas realizadas no período do verão. Em relação à primeira coleta os maiores valores das densidades de *Enterococcus* sp. e *Escherichia coli* foram encontrados na praia de Itaguá (*Enterococcus* sp.: 5274 UFC100g⁻¹; *Escherichia coli*: 8100 UFC100g⁻¹). Na segunda coleta (Figura 6) o maior valor encontrado de *Enterococcus* sp. foi na praia de Domingas Dias (3276 UFC100g⁻¹), e o de *Escherichia coli* foi na praia de Itaguá (72 UFC100g⁻¹).

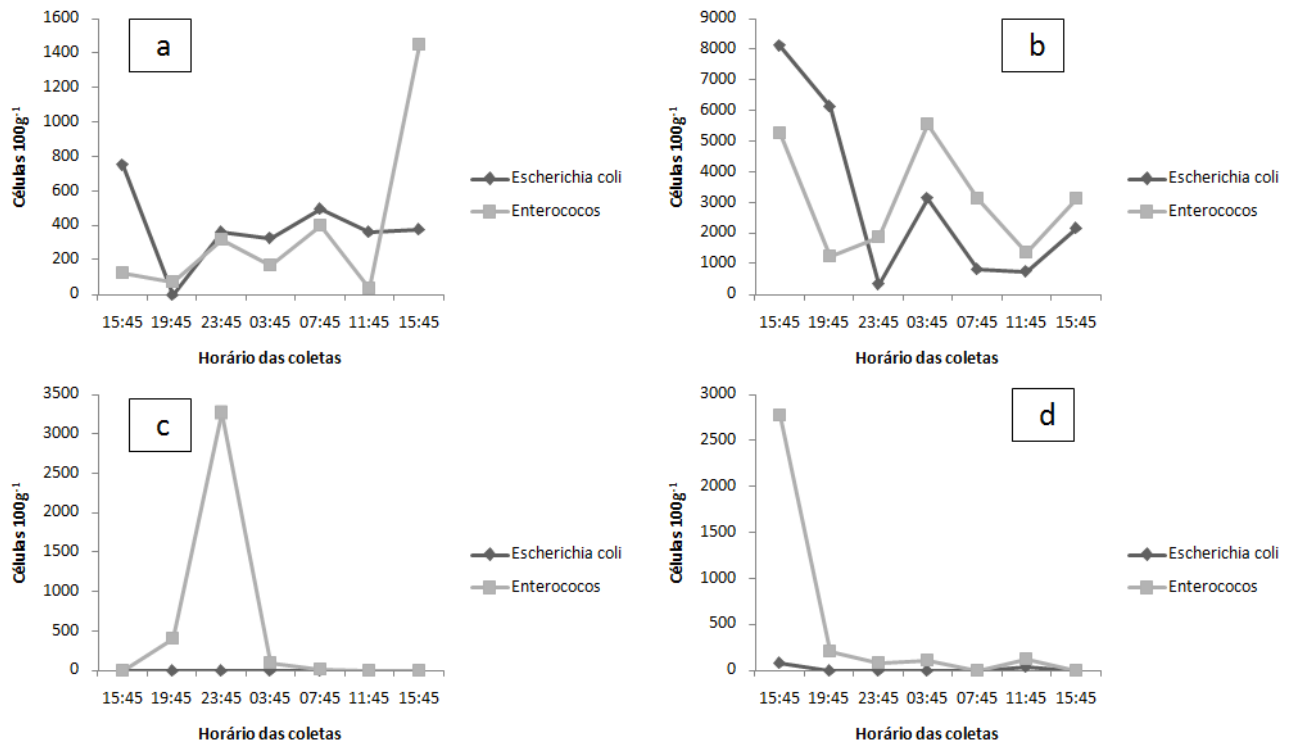


Figura 6: Gráficos com as flutuações das densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. ao longo de 24 horas na primeira coleta de verão nas praias de Domingas Dias (a) e Itaguá (b), e na segunda coleta de verão nas praias de Domingas Dias (c) e Itaguá (d).

Na Figura 7 estão representadas as flutuações das densidades de *Enterococcus* sp. e *Escherichia coli* encontradas nas areias das praias de Domingas Dias e Itaguá nas coletas realizadas no período do inverno. Na primeira coleta o maior valor encontrado para *Enterococcus* sp. foi de $4752 \text{ UFC } 100\text{g}^{-1}$ de sedimento na praia de Domingas Dias e para *Escherichia coli* foi de $1260 \text{ UFC } 100\text{g}^{-1}$ de sedimento na praia de Itaguá. Na segunda coleta de inverno (Figura 7) as maiores densidades de ambos os microrganismos foram encontradas na praia de Domingas Dias (*Enterococcus* sp.: $3402 \text{ UFC } 100\text{g}^{-1}$, *Escherichia coli*: $1080 \text{ UFC } 100\text{g}^{-1}$).

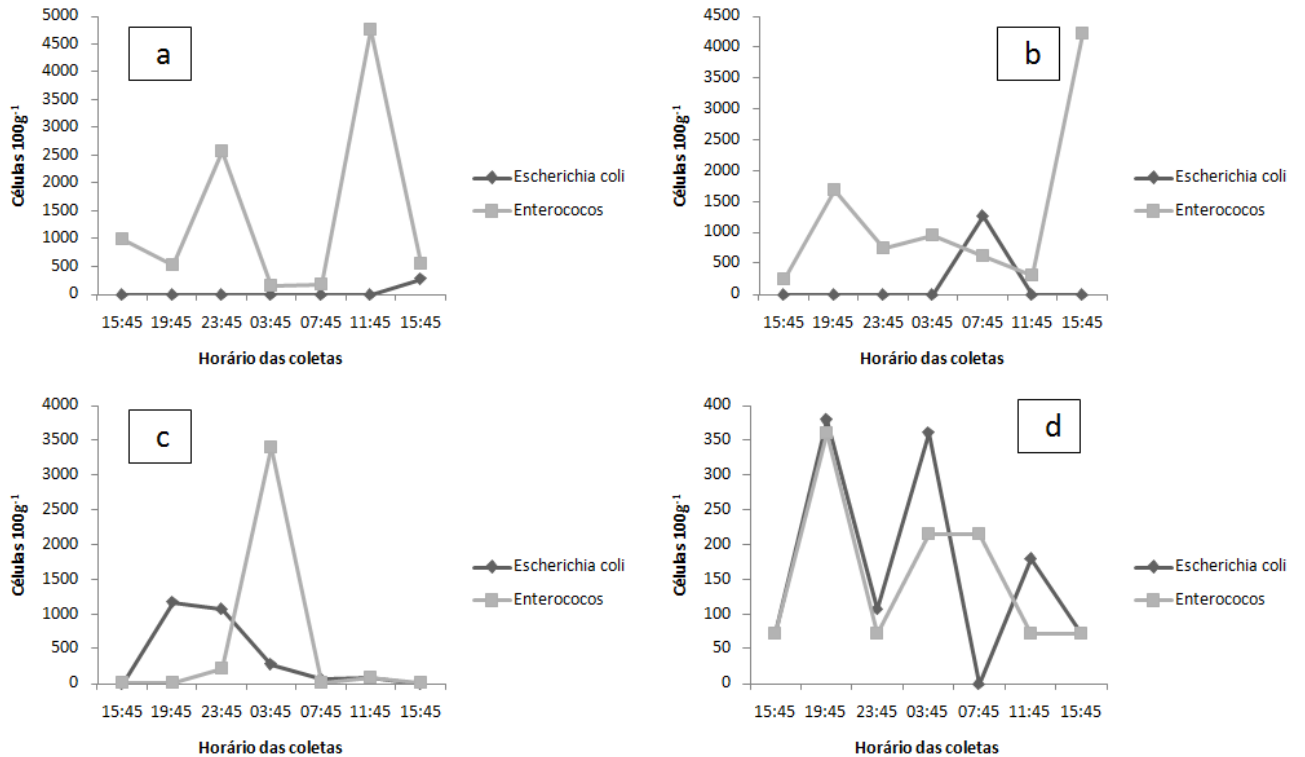


Figura 7: Flutuações das densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. ao longo de 24 horas na primeira coleta de inverno nas praias de Domingas Dias (a) e Itaguá (b), e na segunda coleta de inverno nas praias de Domingas Dias (c) e Itaguá (d).

Considerando os limites dos indicadores de contaminação fecal propostos pela Associação Bandeira Azul da Europa (ABAE, 2008), em que os máximos valores permitidos são de 2000 UFC100g⁻¹ tanto para *Escherichia coli* quanto para *Enterococcus* sp., os limites foram ultrapassados diversas vezes durante as coletas tanto da praia de Domingas Dias quanto de Itaguá, mesmo quando a classificação da praia estava como Própria, indicando riscos à saúde do freqüentador deste ambiente.

Durante a primeira coleta de Verão foi ultrapassado este limite na praia de Itaguá quatro vezes, tanto para *Escherichia coli* quanto para *Enterococcus* sp., em um total de sete amostras.

O ponto de coleta da praia de Itaguá, além de estar próximo a uma marina, ainda recebe esgoto doméstico e, na maioria das vezes, este ponto estava com uma grande quantidade de lixo, tanto na água quanto no sedimento. Segundo dados da CETESB (2013) esta praia estava Imprópria para recreação de contato primário, enquanto que a praia de Domingas Dias obtinha a classificação Própria. Esta coleta

foi realizada logo após um período de feriado prolongado e chuvoso, sendo que o primeiro fator pode causar um aumento da população flutuante no município, acarretando uma maior descarga de poluentes orgânicos. As águas das chuvas podem através da drenagem urbana levar às areias uma grande quantidade de matéria orgânica e de microrganismos presentes nas fezes de animais, no lixo e até mesmo de esgotos de ligação clandestina à rede pluvial, favorecendo a proliferação dos mesmos neste ambiente (CETESB, 2013), o que pode ter sido a causa do resultado obtido.

Na segunda coleta de verão os limites considerados foram ultrapassados somente para *Enterococcus* sp. uma vez em cada praia, em um total de sete amostras. Esta coleta não foi precedida por chuvas e nem por períodos de feriado. Segundo dados da CETESB (2013) ambas as praias estavam Próprias para o uso de contato primário.

Na primeira coleta de inverno duas das sete amostras da praia de Domingas Dias ultrapassaram os limites de *Enterococcus* sp., e somente uma das sete amostras de Itaguá ultrapassou os limites também de *Enterococcus* sp. Esta coleta foi realizada no primeiro dia de um feriado prolongado, não precedido por chuva. As duas praias estudadas obtinham classificação Própria, segundo dados da CETESB (2013).

Quanto a última coleta de inverno, o limite considerado foi ultrapassado apenas uma vez, sendo este de *Enterococcus* sp. na praia de Domingas Dias, que segundo dados da CETESB obtinha a classificação Própria para contato primário. Já a praia de Itaguá, que não ultrapassou os limites de indicadores de contaminação fecal considerados, obtinha a classificação Imprópria, indicando que estes microrganismos podem estar concentrados em determinados locais formando mosaicos de contaminação, dificultando a extrapolação para outros trechos da praia.

Os valores mais altos das densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. ocorreram, na maioria das vezes no período do Verão. Estes resultados corroboram com os estudos de Passos et al. (2011), que obtiveram valores menores de densidade de microrganismos indicadores de contaminação fecal no período do Inverno. Além disso, as chuvas podem ter colaborado para a chegada desses microrganismos no sedimento e a sua disseminação.

As bactérias do gênero *Enterococcus* mostraram serem melhores indicadoras de contaminação fecal do que as bactérias da espécie *Escherichia coli*, as quais tiveram um menor acúmulo no sedimento em comparação com as densidades obtidas de *Enterococcus* sp. Resultados semelhantes foram obtidos nos estudos de Alm et al. (2003).

4.3. Granulometria e Matéria Orgânica

Os valores da granulometria dos sedimentos das praias de Domingas Dias e Itaguá de todas as coletas estão apresentados na Figura 8.

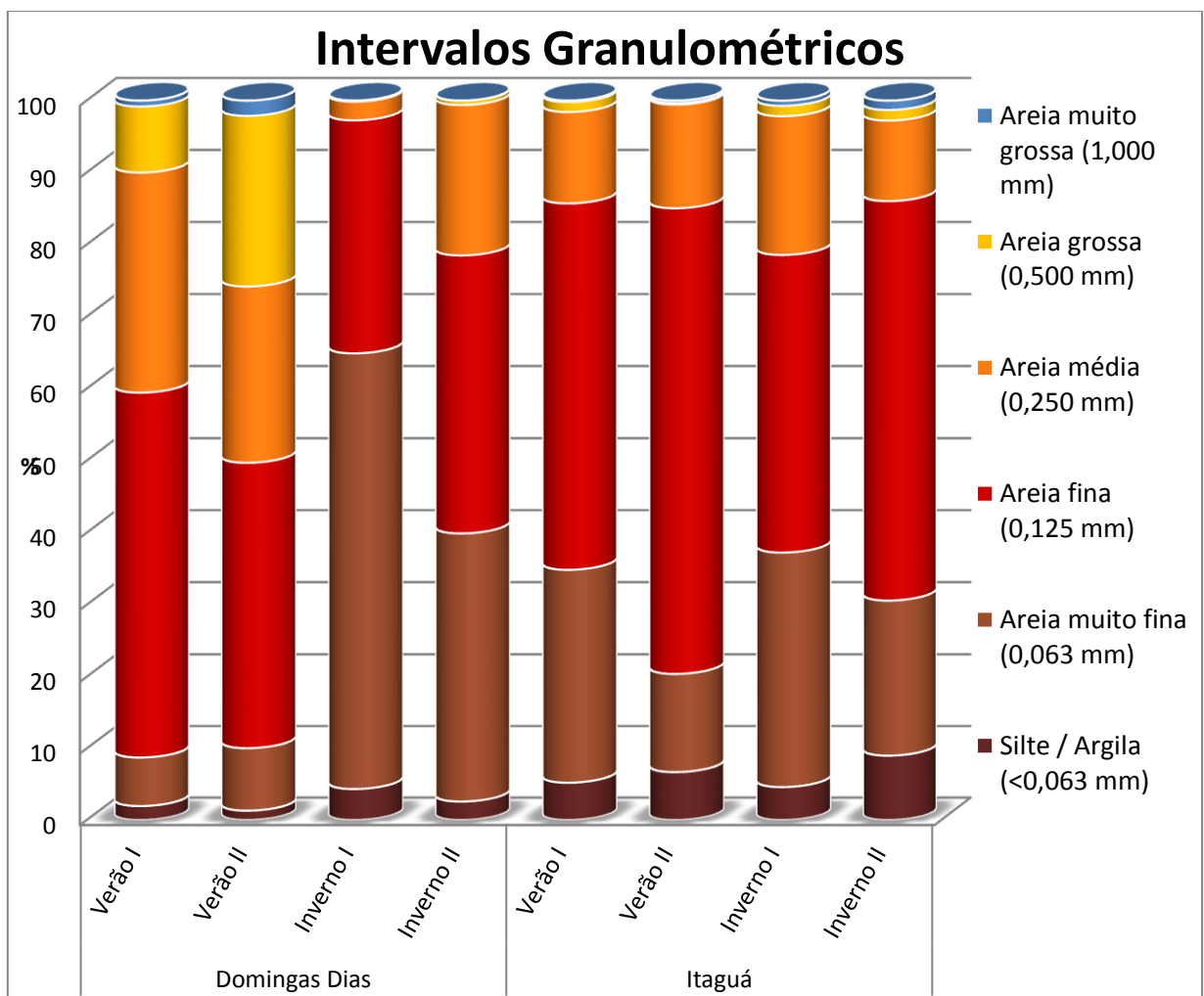


Figura 8: Porcentagens granulométricas dos sedimentos coletados nas praias de Domingas Dias e Itaguá.

Na praia de Itaguá, as maiores porcentagens granulométricas foram sempre da classificação areia fina, seguida por areia muito fina. Na praia de Domingas Dias, durante as coletas de verão, as maiores porcentagens granulométricas foram da classificação areia fina seguida por areia média. Quanto às coletas de inverno, na primeira houve prevalência de areia muito fina seguida por areia fina, e na segunda coleta prevalência de areia fina seguida por muito fina com valores bem próximos de porcentagem.

As porcentagens de matéria orgânica encontradas nos sedimentos das praias de Domingas Dias e Itaguá encontram-se na Tabela 1, sendo que os maiores valores de matéria orgânica foram encontrados em todas as coletas na praia de Itaguá, e os menores valores na praia de Domingas Dias.

Por ser uma praia mais abrigada, a praia de Itaguá apresentou um sedimento predominantemente menor, enquanto que a praia de Domingas Dias, por ser mais exposta, apresentou porcentagens mais elevadas de grãos de tamanho maior, provavelmente por ser uma praia mais exposta à ação de ondas. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Abreu de Castilhos (1995). A quantidade maior de matéria orgânica na praia de Itaguá pode estar relacionada a dois fatores, ao menor tamanho dos grãos de sedimento que proporcionam uma maior superfície de contato e melhor aderência das partículas de matéria orgânica e/ou à descarga de esgoto doméstico direto ao mar, evento que foi visualizado durante as coletas e corroborado pelas altas densidades de bactérias fecais observadas.

Tabela 1: Valores das porcentagens de matéria orgânica presente nas praias de Domingas Dias e Itaguá.

Coleta\ Praias	Domingas Dias	Itaguá
Verão I	0,77	1,56
Verão II	1,10	1,31
Inverno I	0,97	1,23
Inverno II	0,72	1,14

4.4. Contagem Direta de Microrganismos

As flutuações nas densidades dos microrganismos obtidas através do método de contagem direta por microscopia de epifluorescência (Figura 9) de cada coleta estão representadas nas Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13, Figura 14, Figura 15, Figura 16 e Figura 17.

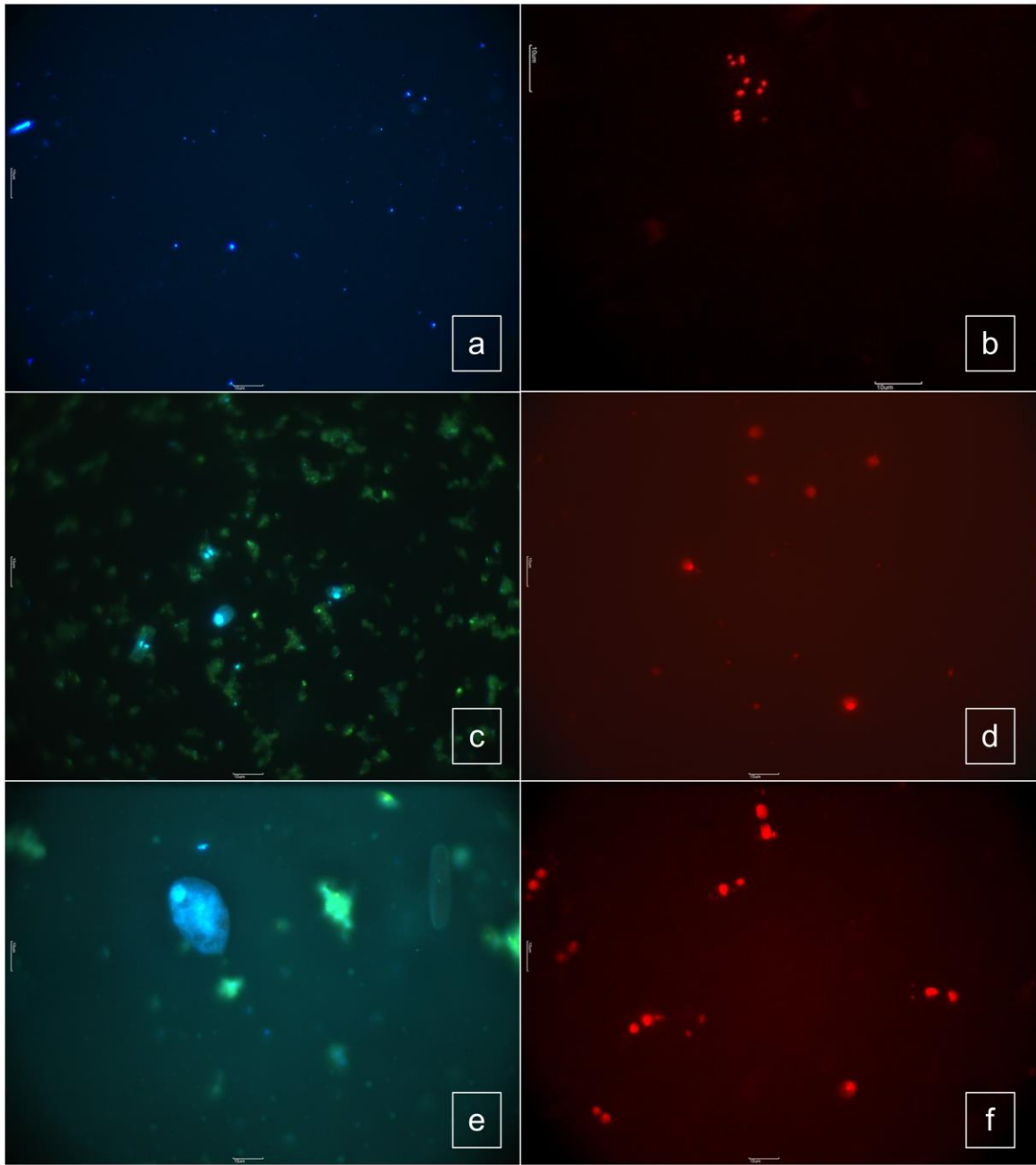


Figura 9: Bactérias heterotróficas(a), cianobactérias(b), nanoheterótrofos(c), nanoautótrofos(d), microheterótrofos(e) e microautótrofos(f) visualizados em microscópio de epifluorescência.

Os valores encontrados das densidades de cianobactérias na praia de Domingas Dias variou de $1,44.10^4$ células.g⁻¹ a $1,89.10^5$ células.g⁻¹ e na praia de Itaguá de $2,01.10^4$ células.g⁻¹ a $1,98.10^5$ células.g⁻¹. Para bactérias os valores de densidade variaram de $1,83.10^6$ células.g⁻¹ a $1,12.10^7$ células.g⁻¹ na praia de Domingas Dias e de $1,87.10^6$ células.g⁻¹ a $1,03.10^7$ células.g⁻¹ na praia de Itaguá.

As densidades encontradas de nanoflagelados autótrofos variaram de $4,0.10^3$ células.g⁻¹ a $3,6.10^5$ células.g⁻¹ na praia de Domingas Dias e $5,71.10^3$ células.g⁻¹ a

$1,45.10^5$ células.g⁻¹ na praia de Itaguá. Quanto aos flagelados heterótrofos as densidades variaram de $2,86.10^3$ células.g⁻¹ a $5,14.10^4$ células.g⁻¹ na praia de Domingas Dias e de $9,43.10^3$ células.g⁻¹ a $6,57.10^4$ células.g⁻¹ na praia de Itaguá.

Os organismos pertencentes ao microplâncton autótrofo foram detectados com densidades variando de $6,29.10^3$ células.g⁻¹ a $1,39.10^5$ células.g⁻¹ na praia de Domingas Dias e de $1,14.10^4$ células.g⁻¹ a $8,98.10^4$ células.g⁻¹ na praia de Itaguá. E, por último, os organismos pertencentes ao microplâncton heterótrofo foram detectados com densidades variando de $5,71.10^3$ células.g⁻¹ a $7,09.10^4$ células.g⁻¹ na praia de Domingas Dias e de $8,8.10^3$ células.g⁻¹ a $9,37.10^4$ células.g⁻¹ na praia de Itaguá.

A partir das flutuações ao longo de 24 horas percebe-se que em ambas as praias no período de inverno há um decréscimo na população de nanoflagelados autótrofos enquanto aumenta a população de microplâncton heterótrofo, mostrando uma possível interação presa-predador, sendo que as maiores densidades de microplâncton heterótrofo na maioria das coletas foram atingidas em períodos noturnos, coincidindo com as menores densidades de nanoflagelados autótrofos e de cianobactérias, esta última principalmente na praia de Domingas Dias. Durante as coletas de verão foi possível observar que enquanto havia o crescimento da densidade de microplâncton heterótrofo ocorria a diminuição da densidade de cianobactérias na praia de Domingas Dias. Já na praia de Itaguá foram observadas diminuições das populações de bactérias e nanoflagelados heterótrofos coincidindo com o aumento de microplâncton heterótrofo, mostrando que estes predadores podem se alimentar de todos os microrganismos de tamanho menor do que eles. Desta maneira, o microplâncton heterótrofo pode controlar as populações pertencentes ao picoplâncton e ao nanoplâncton, tanto autótrofos quanto heterótrofos (FENCHEL, 1990). Este controle pode depender dos diferentes ambientes que estes microrganismos estão presentes, da densidade dos mesmos, do tamanho, da maneira de alimentação do predador, das respostas fisiológicas e morfológicas às variações do ambiente. Todos estes fatores variam de acordo com as espécies (KUOSA, 1991). Porém, parece haver uma preferência de consumo por organismos do pico e nanoplâncton autótrofo no período de inverno, de pico e nanoplâncton heterótrofo no verão na praia de Itaguá e de picoplâncton autótrofo no verão na praia de Domingas Dias. Foi visualizada situação semelhante quanto aos

predadores de menor tamanho, os nanoflagelados heterótrofos, no verão aparentemente apresentam uma preferência por consumo de cianobactérias na praia de Domingas Dias e de bactérias na praia de Itaguá.

Nas coletas que apresentaram valores menores de matéria orgânica prevaleceram as predações por pico e nanoplâncton autótrofos, enquanto que nas coletas com valores mais altos de matéria orgânica prevaleceu a predação por pico e nanoplâncton heterótrofos. A mesma relação de quantidade de matéria orgânica e preferência pelo consumo de pico e nanoplâncton autótrofo ou heterótrofo foi observada em outros estudos (BARRETA-BEKKER et al., 1998; KORMAS et al., 1998; METZLER et al., 2000; OLIVEIRA, 2000), sendo que em ambientes com menores quantidades de matéria orgânica há uma preferência de consumo dos predadores por cianobactérias, e em ambientes com maiores quantidades de matéria orgânica há uma preferência pelo consumo de bactérias. Estes resultados indicam que em ambientes oligotróficos, os microrganismos são muito importantes por funcionarem como um elo de transferência de matéria orgânica e energia para níveis tróficos superiores da cadeia trófica e também que em períodos oligotróficos do ano, a alça microbiana é o componente predominante da cadeia alimentar, podendo ocorrer alternâncias sazonais da atividade alimentar dos predadores dependendo do status trófico do ambiente (HALL et al., 1993; KUOSA, 1991).

É importante salientar que as flutuações dos microrganismos podem sofrer diversas interferências concomitantes à de predadores, como os fatores ambientais temperatura, matéria orgânica, granulometria, pluviosidade e até mesmo contaminantes. Os microrganismos fotossintetizantes, por exemplo, podem parecer que estão sendo controlados quanto as suas densidades somente pelos predadores durante o período noturno, mas o período que fazem fotossíntese é o diurno, podendo este fato estar interferindo nas densidades dos organismos autótrofos em conjunto com a predação por organismos maiores, como os do microplâncton heterótrofo e nanoflagelados heterótrofos.

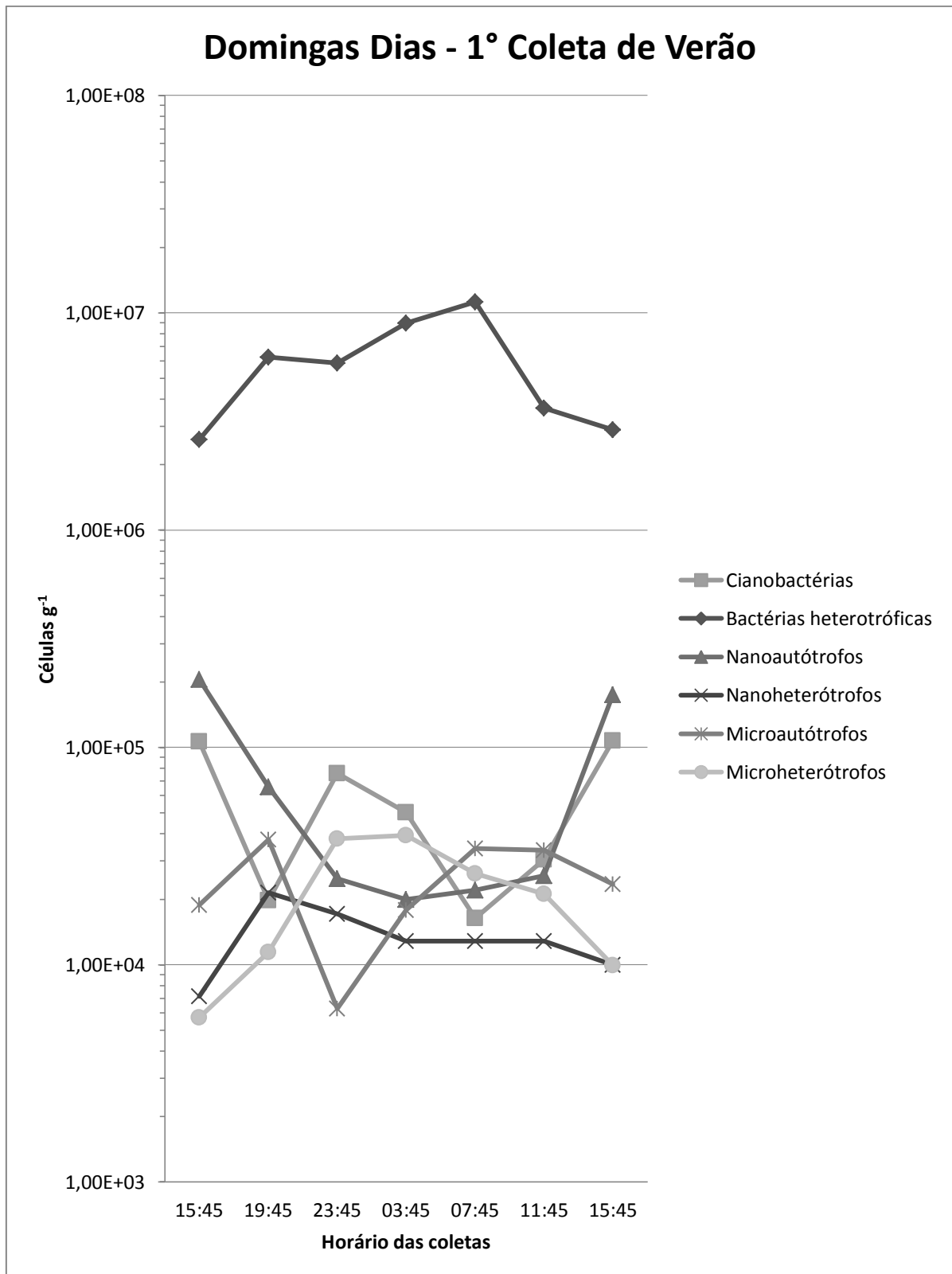


Figura 10: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de verão na praia de Domingas Dias.

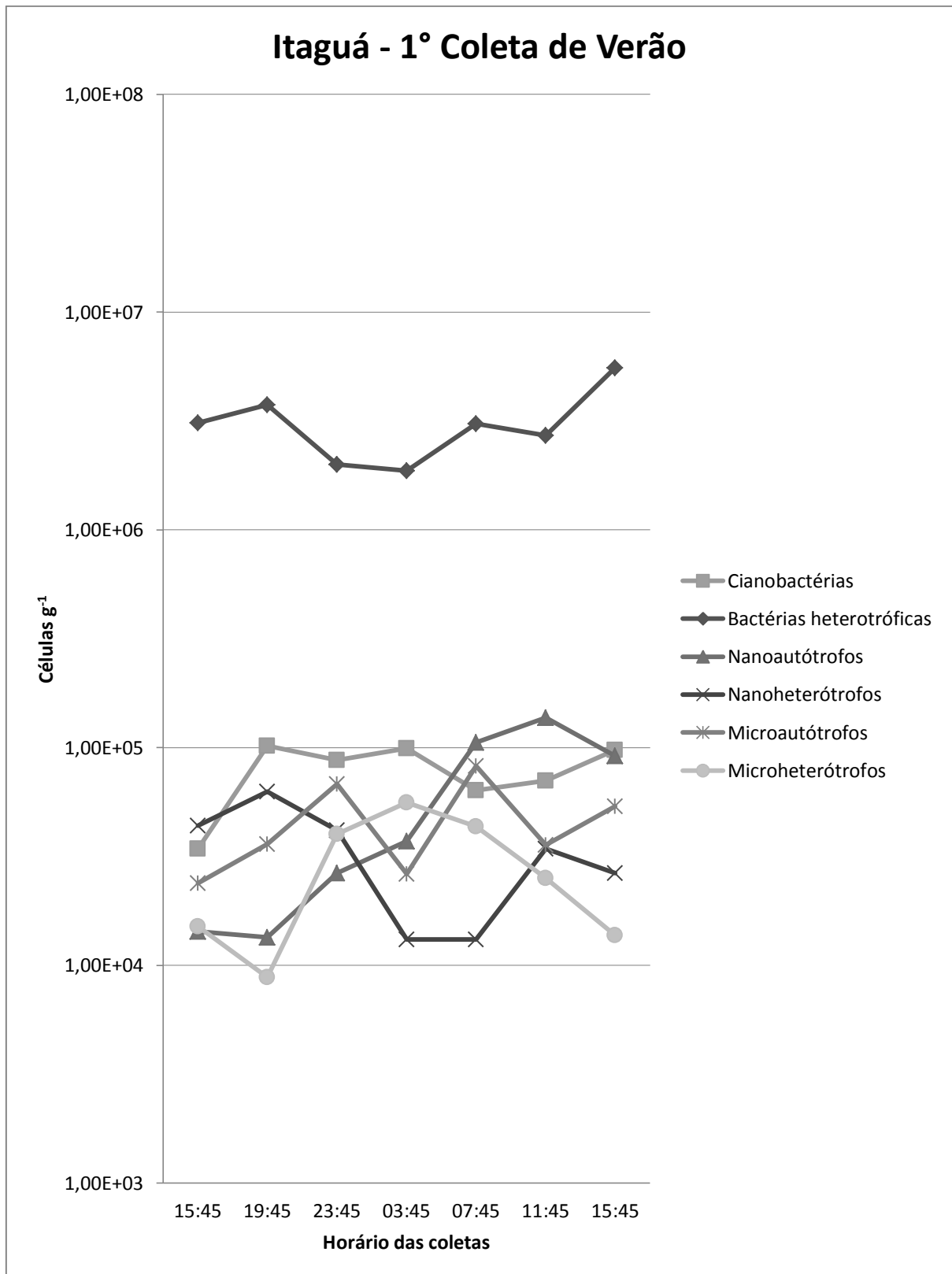


Figura 11: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de verão na praia de Itaguá.

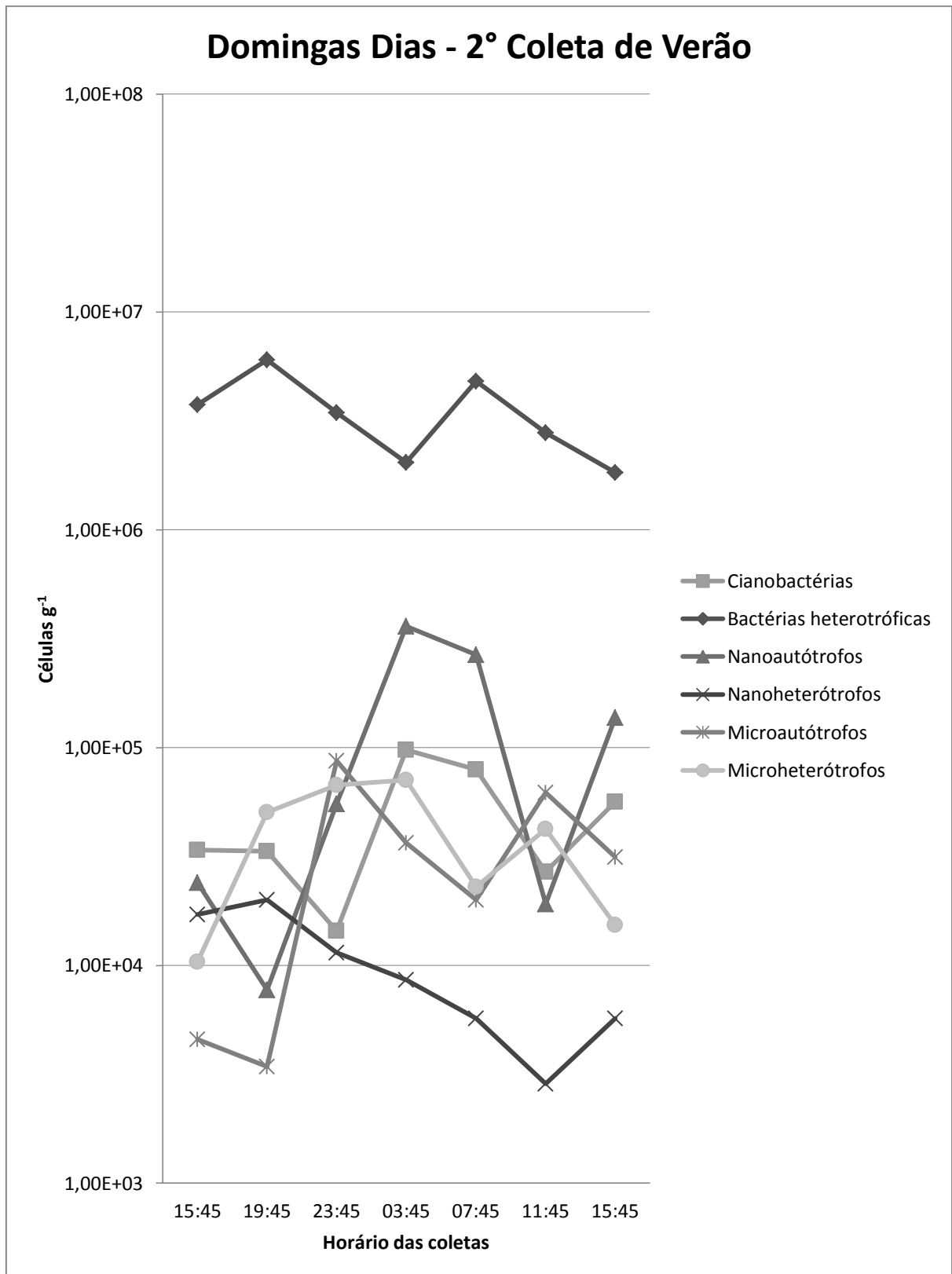


Figura 12: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de verão na praia de Domingas Dias.

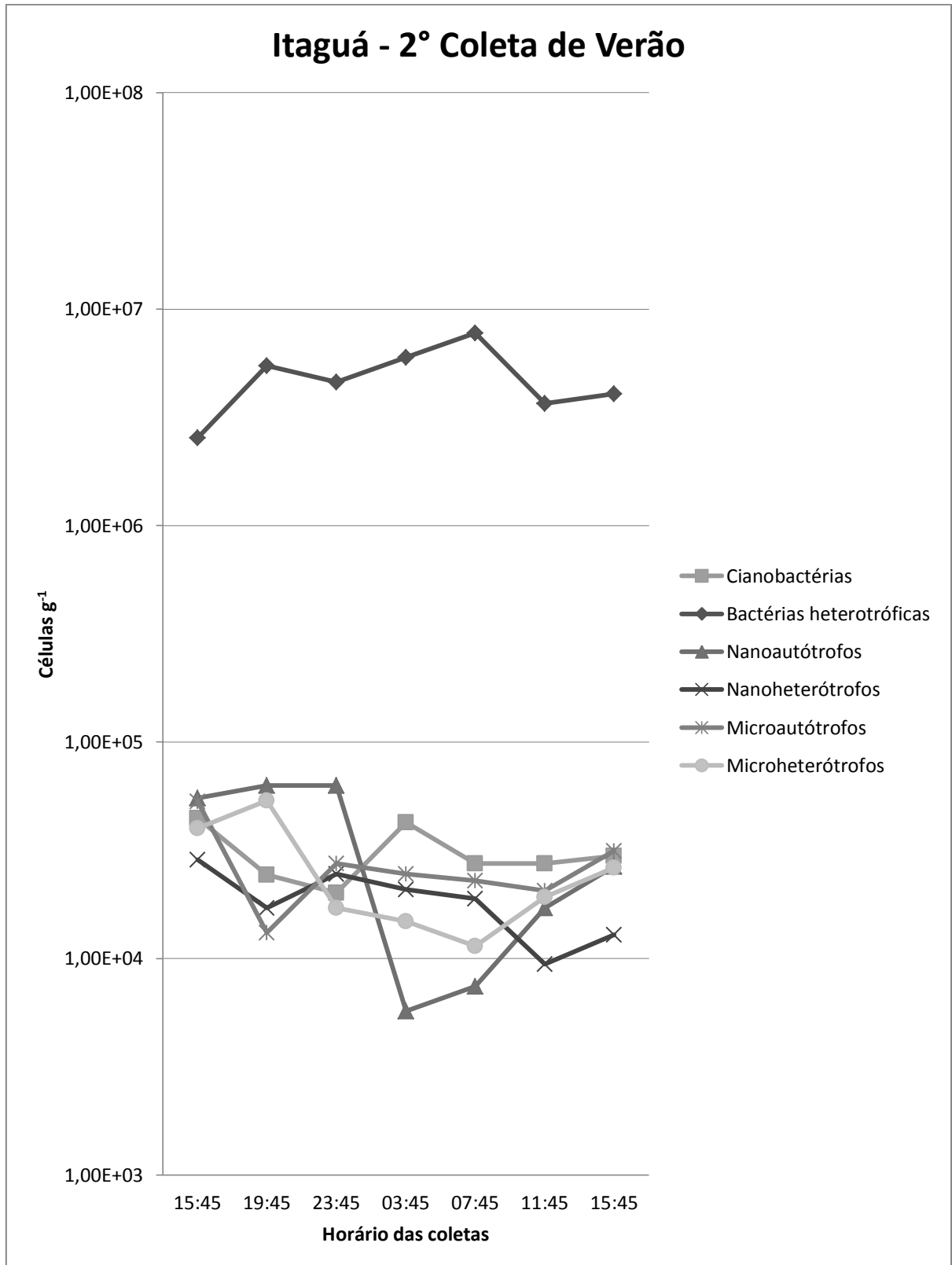


Figura 13: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de verão na praia de Itaguá.

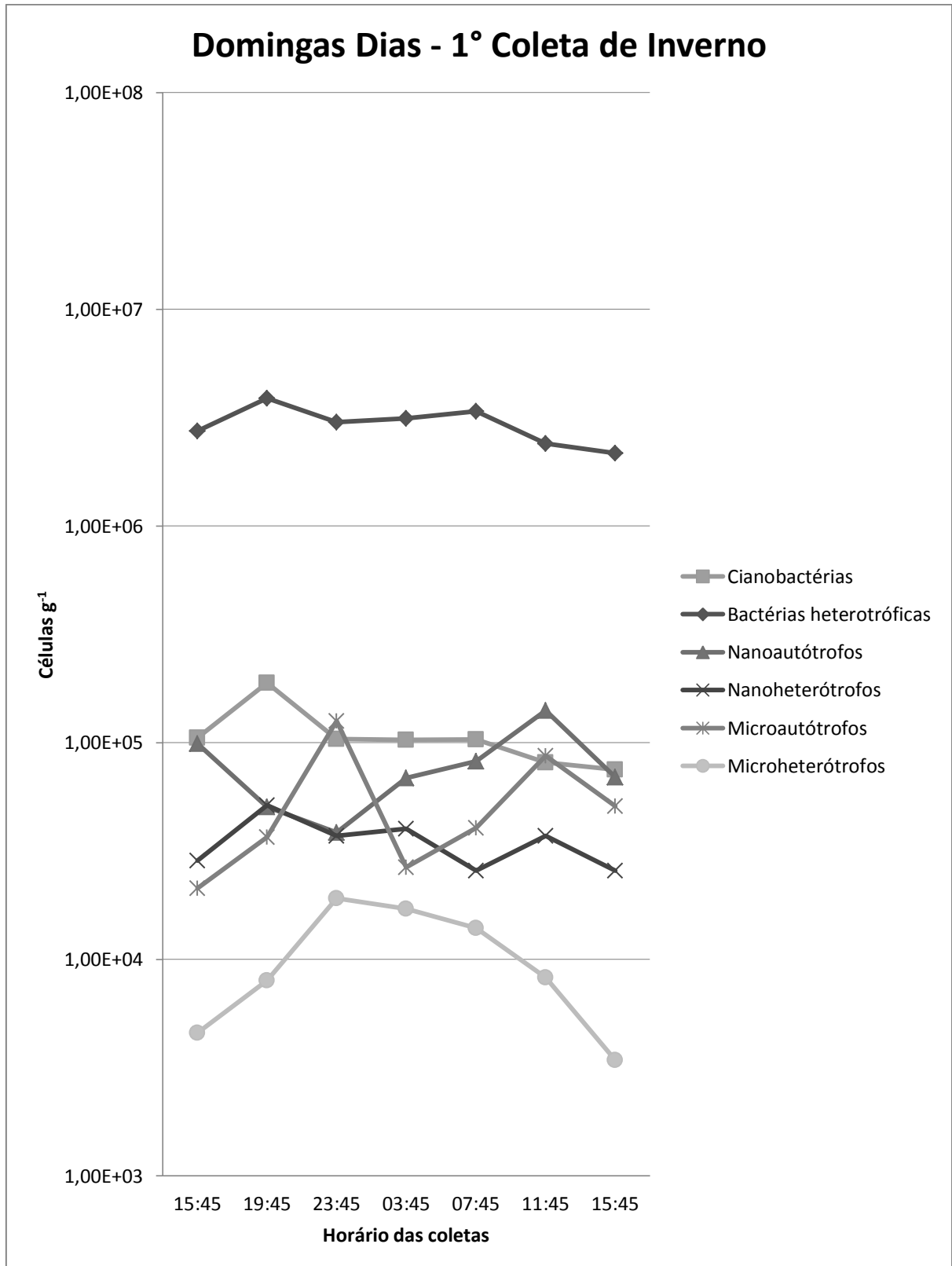


Figura 14: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de inverno na praia de Domingas Dias.

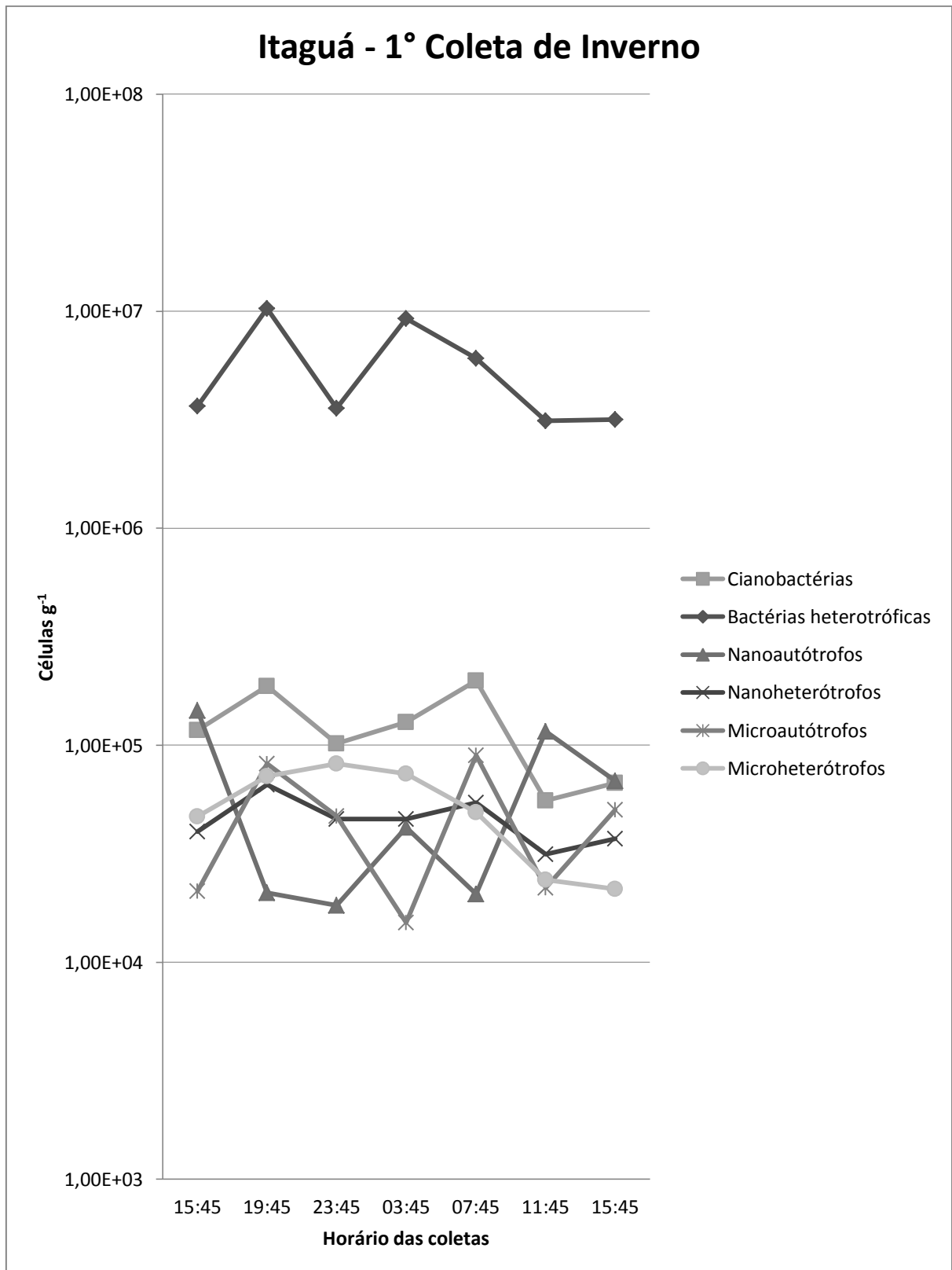


Figura 15: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na primeira coleta de inverno na praia de Itaguá.

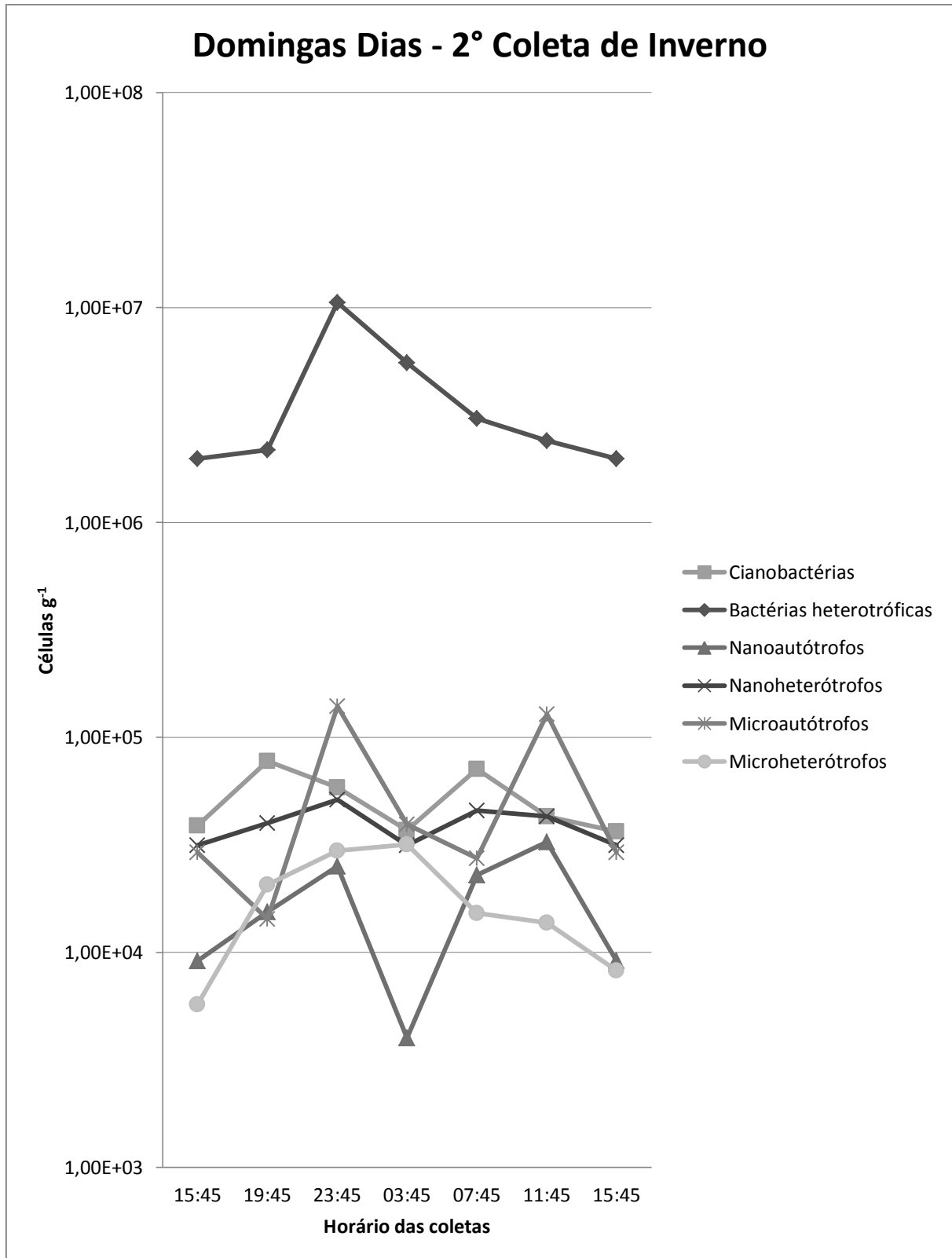


Figura 16: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de inverno na praia de Domingas Dias.

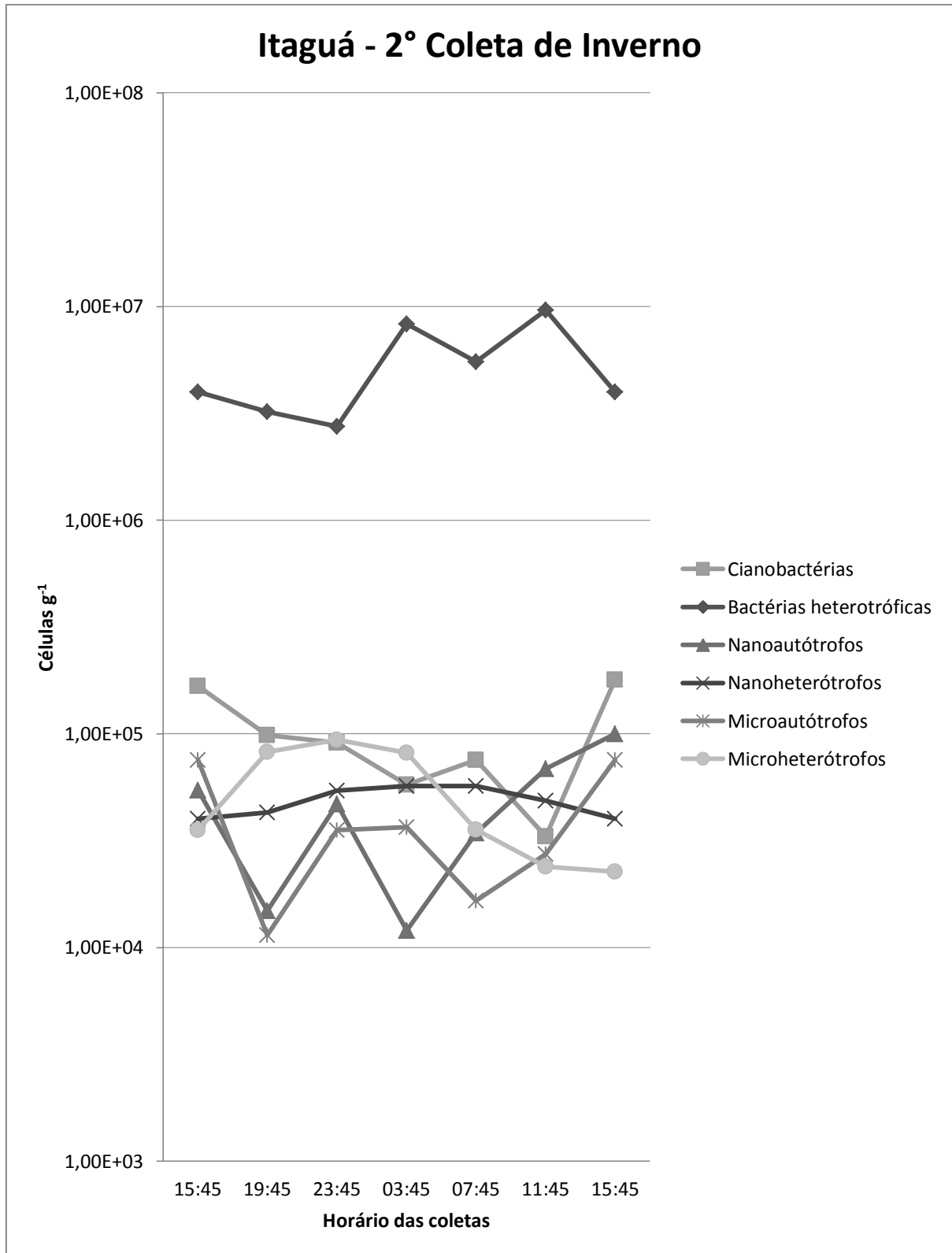


Figura 17: Flutuação das densidades de cianobactérias, bactérias heterotróficas, nanoautótrofos, nanoheterótrofos, microautótrofos e microheterótrofos na segunda coleta de inverno na praia de Itaguá.

4.5. Análises Estatísticas

4.5.1. Médias e Desvio Padrão das densidades

Os valores médios das densidades de microrganismos encontrados nas coletas de verão e inverno nas praias de Domingas Dias e Itaguá estão representados na Figura 18. As médias das densidades dos microrganismos mostraram valores mais altos de microrganismos heterótrofos na praia de Itaguá e autótrofos de maior tamanho na praia de Domingas Dias. Já em relação às densidades de cianobactérias, os valores foram mais elevados na praia de Itaguá. Esta praia, por possuir marinas e embarcações pode conter um acúmulo de materiais derivados de petróleo e, de acordo com Barth (2003), as cianobactérias são bem representativas em ambientes contaminados por hidrocarbonetos, explicando sua maior densidade encontrada nesta praia semelhantemente aos resultados obtidos por Oliveira *et al.* (2007) na praia do Perequê, no município de Guarujá.

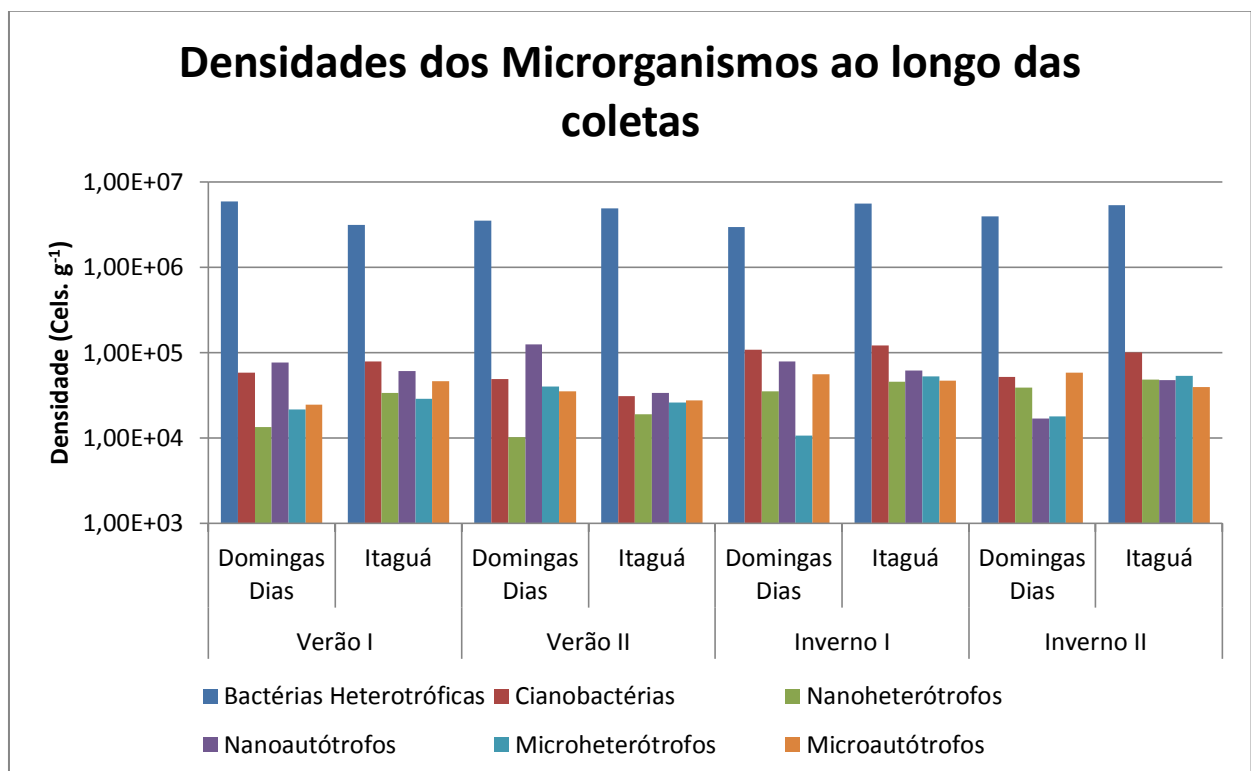


Figura 18: Densidades Médias dos Microrganismos, nas praias de Domingas Dias e Itaguá, nas coletas de verão e inverno

As densidades de bactérias heterotróficas foram, de maneira geral, duas ordens de grandeza maiores que as densidades de todos os outros microrganismos analisados nas duas praias em todas as coletas, aparecendo nas ordens de grandeza de 10^6 a 10^7 células.g⁻¹ de sedimento. As maiores densidades médias de bactérias foram obtidas na praia de Itaguá em todas as coletas com exceção da primeira coleta de verão (Figura 19).

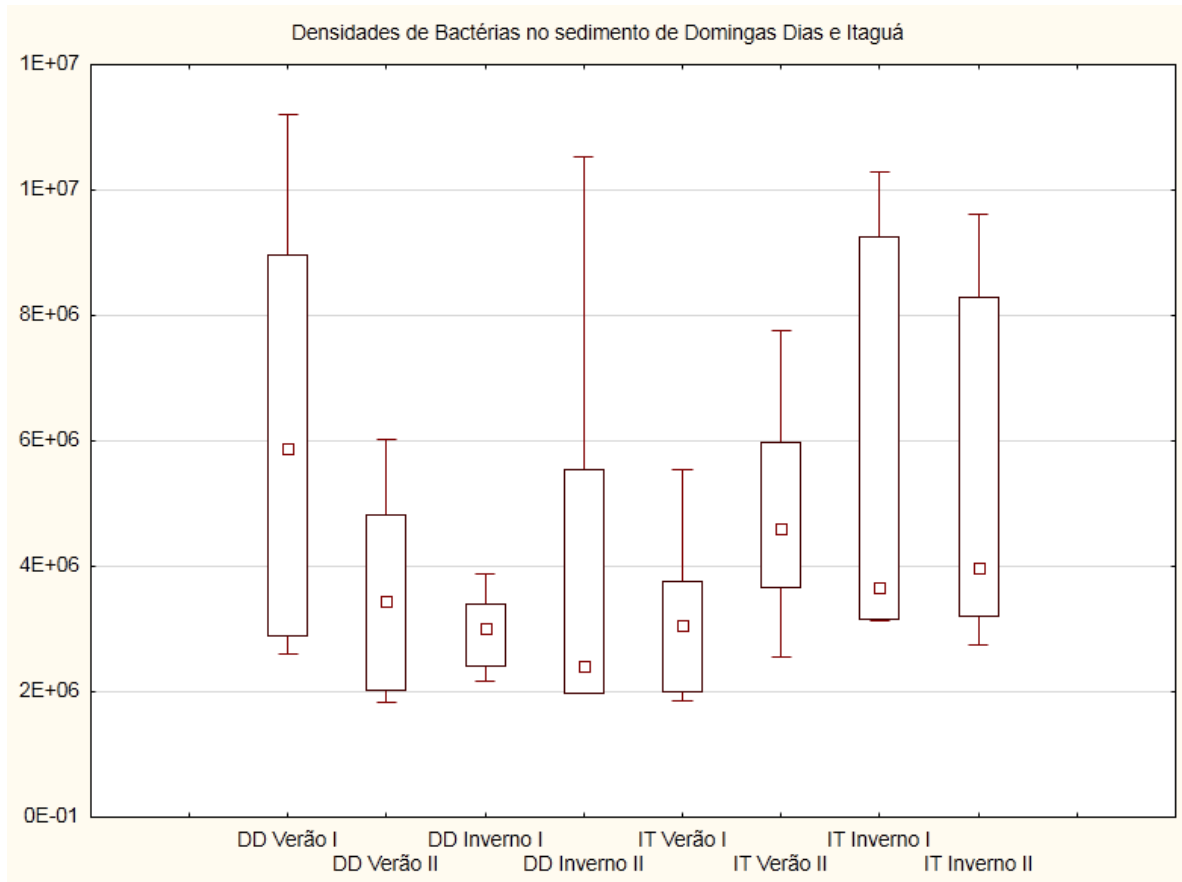


Figura 19: Densidade média e desvio padrão das densidades de bactérias heterotróficas no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).

As densidades médias de cianobactérias também foram maiores na praia de Itaguá, com exceção da segunda coleta de verão. As mesmas foram encontradas na ordem de grandeza de 10^4 a 10^5 células.g⁻¹ de sedimento ao longo das coletas (Figura 20). De maneira geral as maiores densidades encontradas de cianobactérias foram no período de inverno.

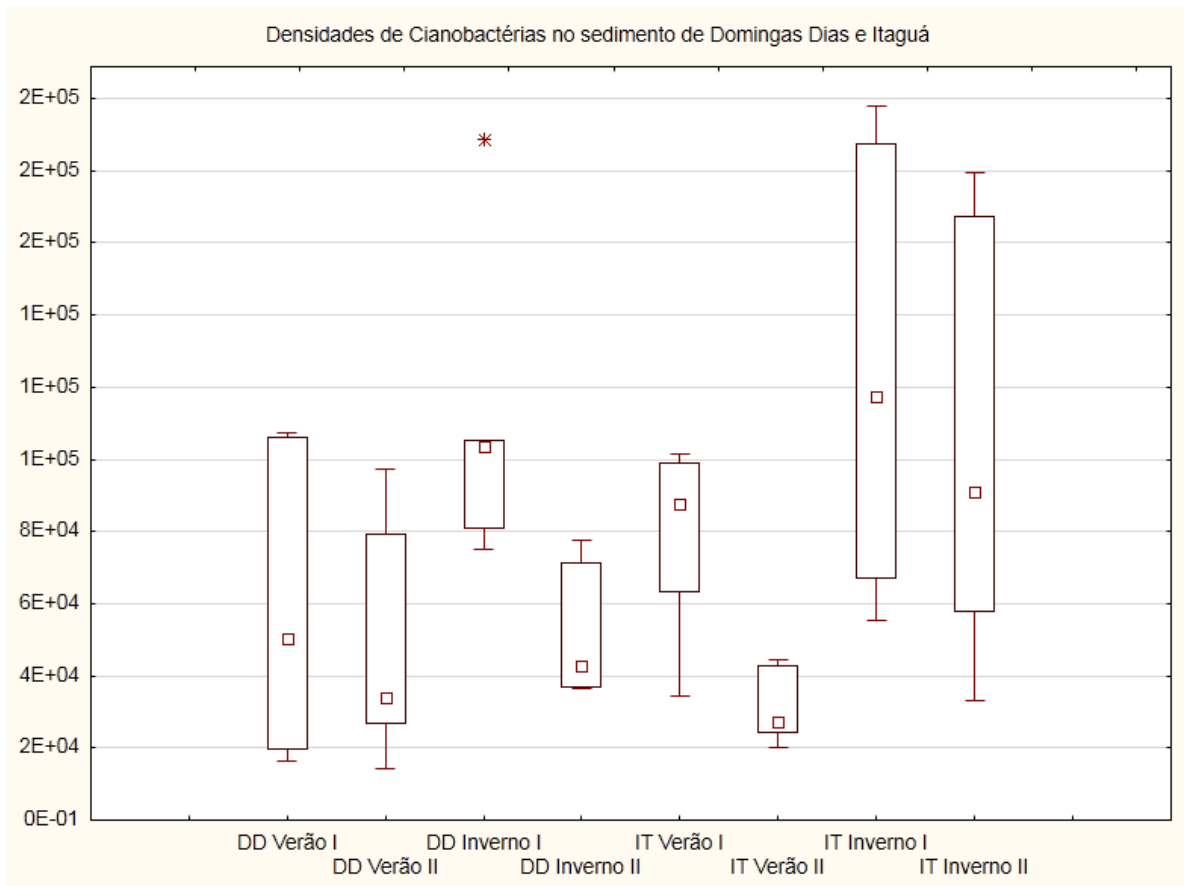


Figura 20: Densidade média e desvio padrão das densidades de cianobactérias no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).

Semelhantemente às bactérias e cianobactérias, as densidades de nanoflagelados heterótrofos foram maiores na praia de Itaguá, principalmente no período de inverno (Figura 21), sendo que os mesmos apareceram em ordem de grandeza de 10^3 a 10^4 células.g⁻¹ de sedimento.

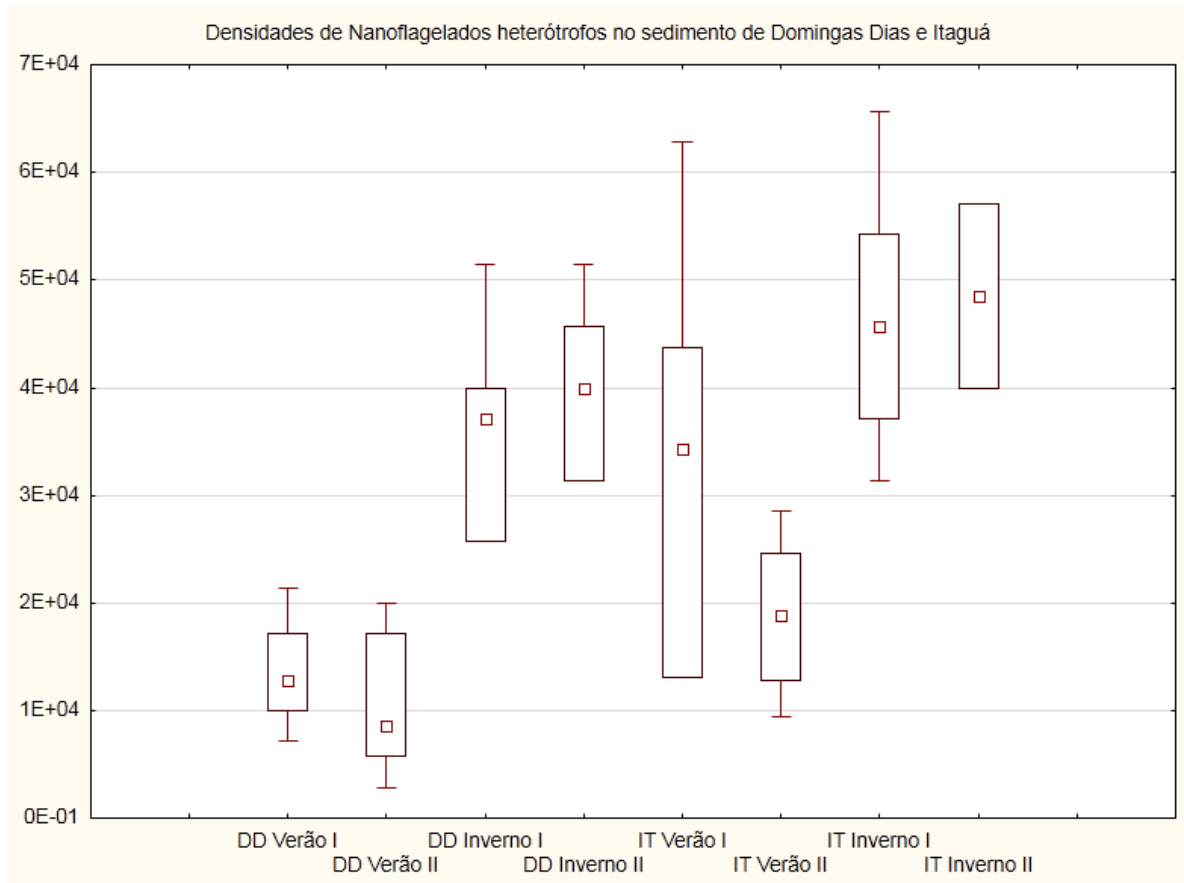


Figura 21: Densidade média e desvio padrão das densidades de nanoflagelados heterótrofos no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).

Em contrapartida, os valores médios das densidades de nanoflagelados autótrofos foram maiores na praia de Domingas Dias, com exceção da segunda coleta de inverno, e os mesmos apareceram em ordem de grandeza de 10^3 a 10^5 células.g⁻¹ de sedimento (Figura 22).

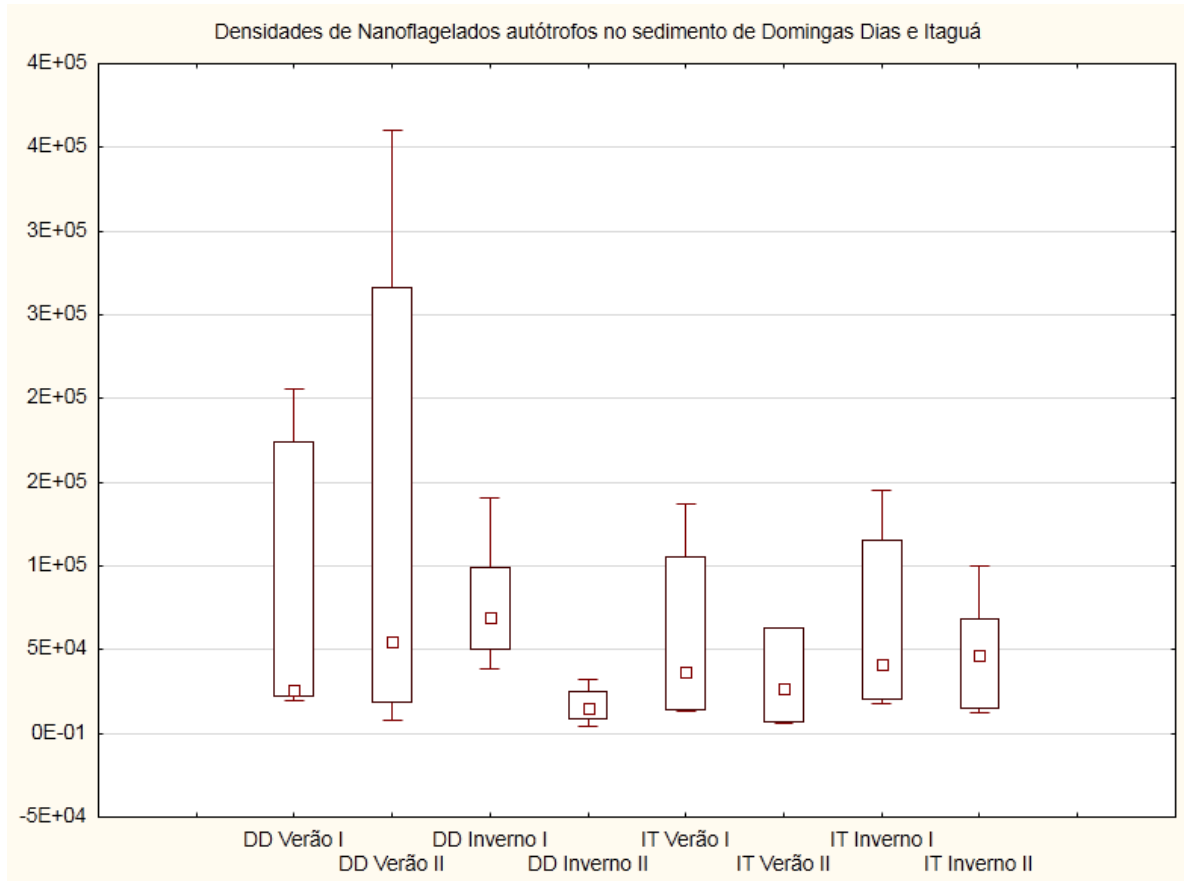


Figura 22: Densidade média e desvio padrão das densidades de nanoflagelados autótrofos no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).

Assim como as médias das densidades de cianobactérias, as médias encontradas dos organismos pertencentes ao microplâncton heterótrofo foram maiores na praia de Itaguá, com exceção da segunda coleta de verão (Figura 23), e apareceram na ordem de grandeza de 10^3 a 10^4 células.g⁻¹ de sedimento.

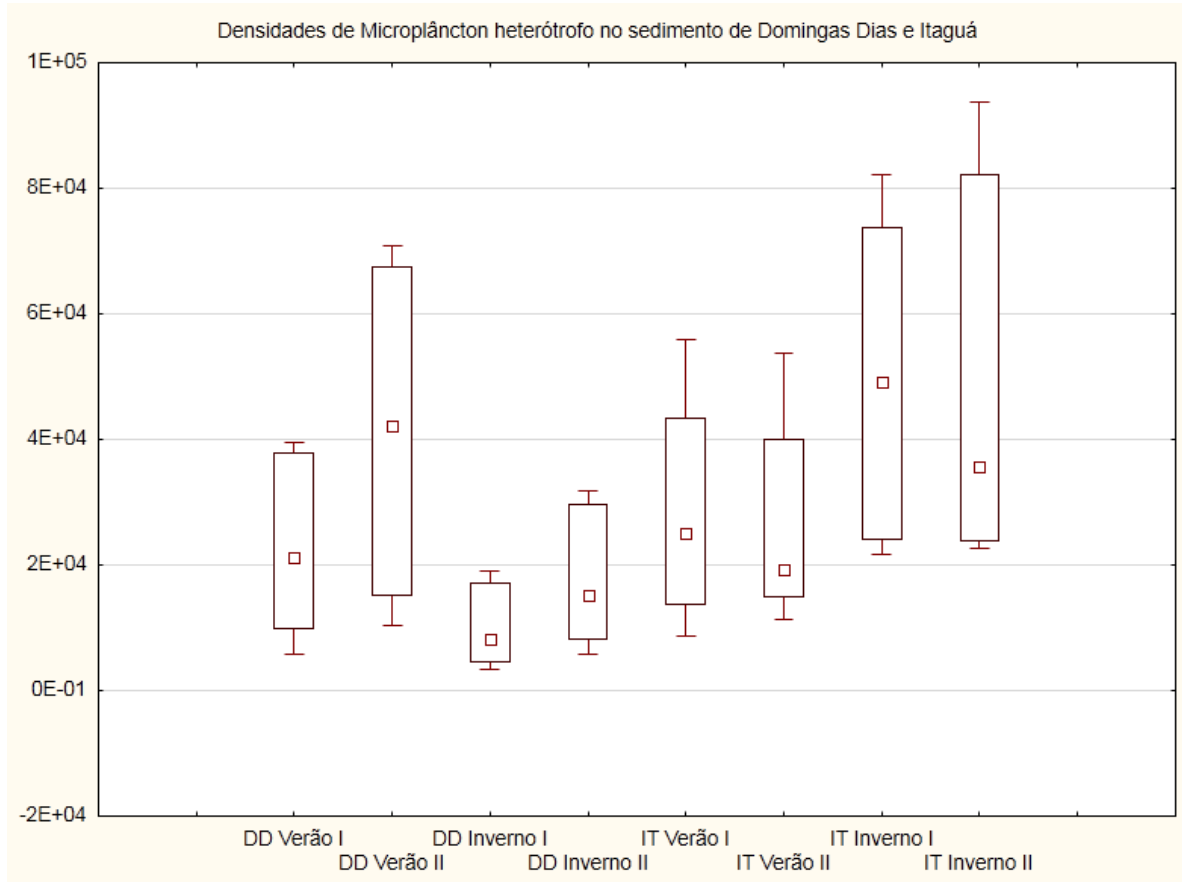


Figura 23: Densidade média e desvio padrão das densidades de organismos percententes ao microplâncton heterótrofo no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).

E, por último, semelhante ao padrão encontrado para os nanoflagelados autótrofos as médias das densidades de organismos pertencentes ao microplâncton autótrofo foram maiores na praia de Domingas Dias, com exceção da primeira coleta de verão, e os mesmos apareceram entre as ordens de grandeza 10^3 a 10^4 células.g⁻¹ de sedimento (Figura 24).

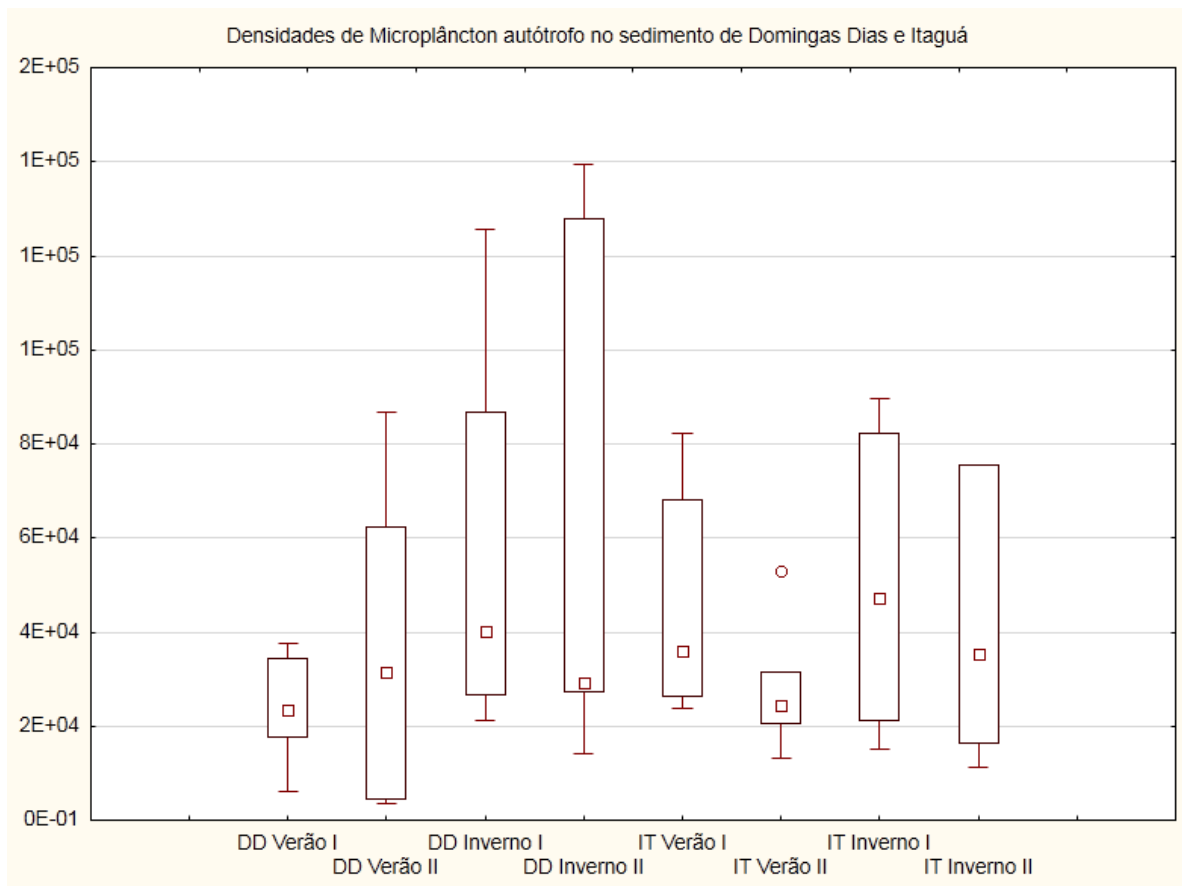


Figura 24: Densidade média e desvio padrão das densidades de organismos percententes ao microplâncton autótrofo no sedimento das praias de Domingas Dias (DD) e Itaguá (IT).

4.5.2. Correlações entre as densidades de microrganismos

A fim de detectar relações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana foram realizadas análises de correlação de Pearson considerando um nível de significância $p \leq 0,05$.

Tabela 2: Valores das correlações entre as densidades de microrganismos encontradas nas areias das praias de Domingas Dias e Itaguá.

Microrganismos	Praias	Correlações entre densidades de microrganismos			
		DD Verão	DD Inverno	IT Verão	IT Inverno
Cianobactérias X Bactérias		-0,41	-0,05	-0,42	0,08
Cianobactérias X Nanoautótrofos		0,76	0,43	0,22	-0,11
Cianobactérias X Nanoheterótrofos		-0,38	0,29	0,45	0,20
Cianobactérias X Microautótrofos		-0,39	-0,15	0,49	0,76
Cianobactérias X Microheterótrofos		-0,16	-0,25	0,13	0,07
Bactérias X Nanoautótrofos		-0,48	-0,20	-0,23	-0,36
Bactérias X Nanoheterótrofos		0,47	0,48	-0,23	0,62
Bactérias X Microautótrofos		-0,22	0,46	-0,41	0,09
Bactérias X Microheterótrofos		0,00	0,70	-0,49	0,12
Nanoautótrofos X Nanoheterótrofos		-0,51	-0,22	-0,11	-0,66
Nanoautótrofos X Microautótrofos		-0,01	0,04	0,43	-0,17
Nanoautótrofos X Microheterótrofos		0,07	-0,45	0,28	-0,61
Nanoheterótrofos X Microautótrofos		-0,38	0,37	0,14	0,23
Nanoheterótrofos X Microheterótrofos		-0,03	0,36	-0,37	0,50
Microheterótrofos X Microautótrofos		0,43	0,33	0,23	-0,15

No período do verão, correlações negativas foram observadas entre nanoflagelados heterótrofos e cianobactérias na praia de Domingas Dias, e entre nanoflagelados heterótrofos e bactérias indicando diferentes relações de presa-predador entre as praias de Domingas Dias e Itaguá. Quanto ao microplâncton heterótrofo, houve uma preferência por nanoflagelados autótrofos no período de inverno em ambas as praias. Além disso, as cianobactérias também apresentaram uma correlação negativa com o microplâncton heterótrofo no período de inverno na praia de Domingas Dias. Já no período de inverno parece haver uma preferência do microplâncton heterótrofo pela predação por heterótrofos na praia de Itaguá e autótrofos na praia de Domingas Dias, mostrando outra diferença no comportamento de predação entre as teias tróficas das praias de Domingas Dias e Itaguá.

4.5.3. Densidades X Temperatura

Para verificar a possibilidade de relações entre os parâmetros físico-bioquímicos com as densidades de microrganismos encontradas no sedimento, foram realizadas regressões e correlações de Pearson.

Os valores de temperatura apresentaram correlação negativa e significativa com as densidades de nanoflagelados heterótrofos ($R = -0,375630631$), as densidades de cianobactérias ($R = -0,344992241$) e as densidades de microplâncton heterótrofo ($R = -0,286643862$). Correlações negativas não significativas foram observadas com as densidades de bactérias ($R = -0,180266619$) e com as densidades de microplâncton autótrofo ($R = -0,111037409$). Os nanoflagelados autótrofos apresentaram uma correlação negativa não significativa com a temperatura ($R = 0,140921629$) (Figura 25).

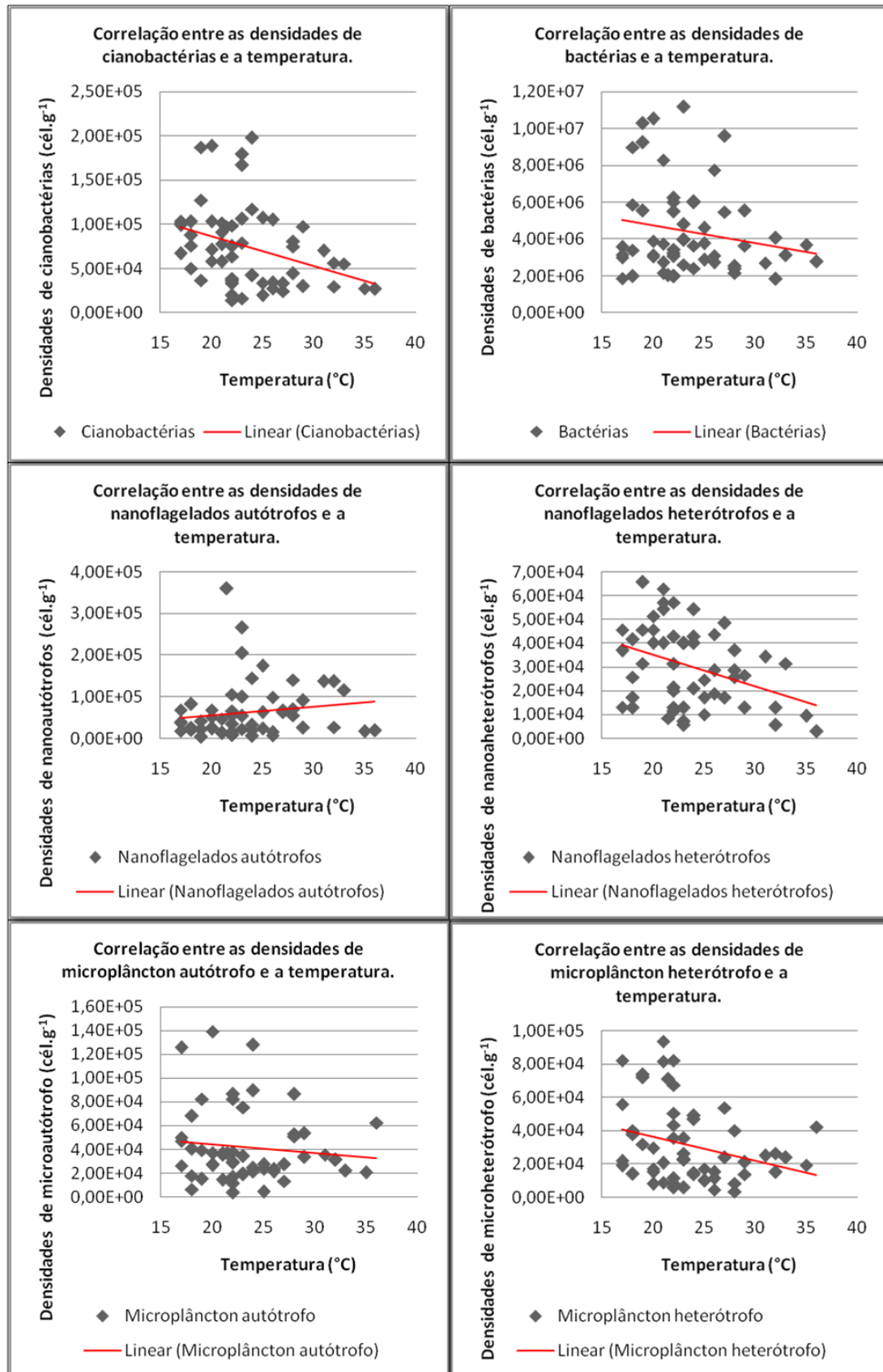


Figura 25: Correlações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com os valores de temperatura do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá

4.5.4. Densidades X Matéria Orgânica

As análises de correlação das densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com as porcentagens de matéria orgânica presente no sedimento mostraram correlações fracas para cianobactérias ($R= 0,153$), bactérias ($R= -0,190$), nanoflagelados heterótrofos ($R= 0,120$) e microplâncton autótrofo ($R= -0,105$), com o menor valor encontrado para nanoflagelados autótrofos ($R= 0,047$). Uma maior correlação foi observada entre os dados de matéria orgânica e densidades do microplâncton heterótrofo ($R= 0,401$) (Figura 26). Com exceção do microplâncton heterótrofo, as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana parecem estar sendo controladas por outro fator, pois os valores das correlações foram muito baixos.

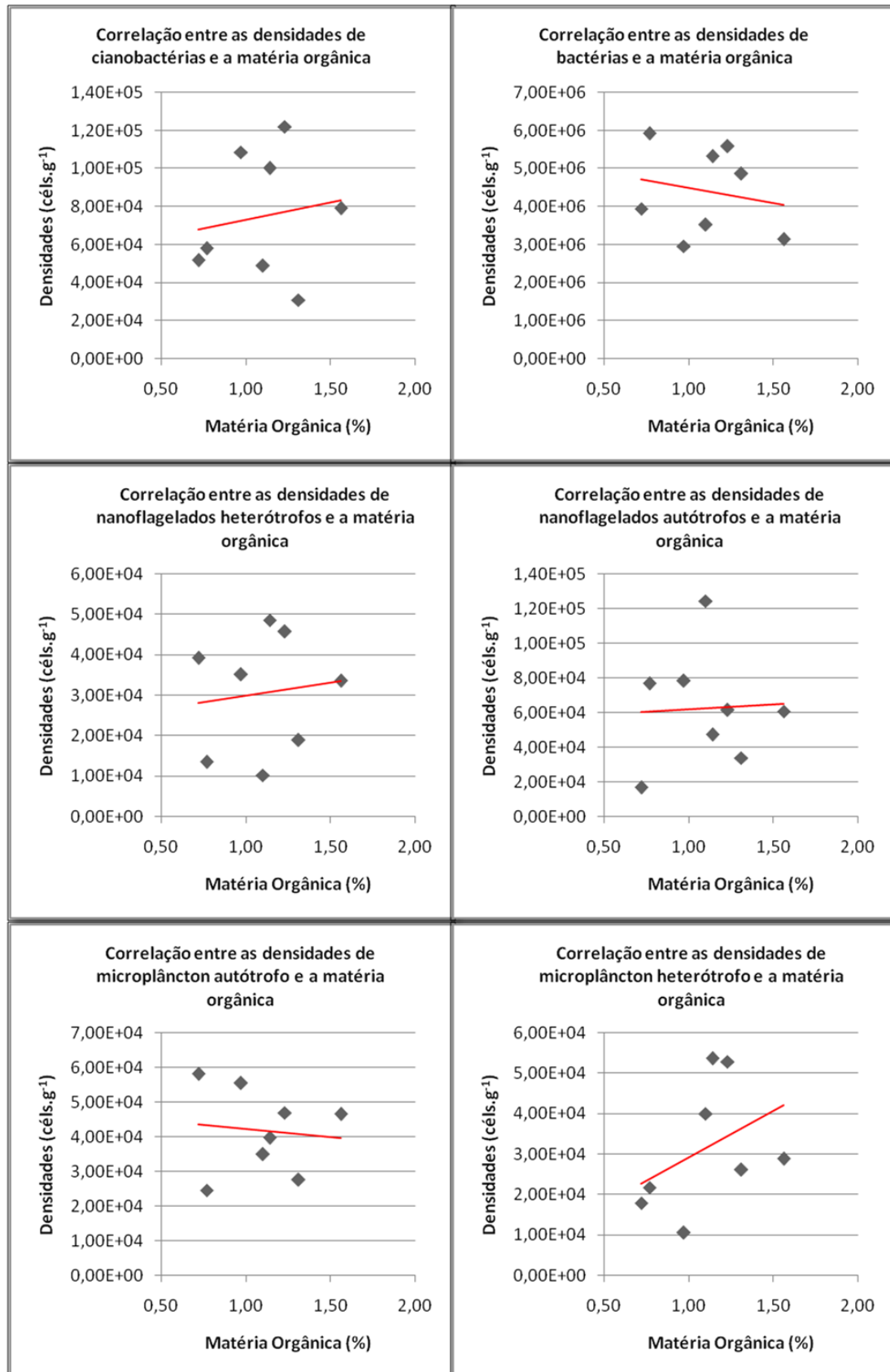


Figura 26: Correlações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com os valores de matéria orgânica do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.

4.5.5. Densidades X Indicadores de Contaminação Fecal

As análises das relações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana e as densidades de indicadores de contaminação fecal foram realizadas considerando-se apenas as densidades de *Enterococcus* sp., pois estes mostraram ser mais representativos neste ambiente do que a espécie *Escherichia coli*.

As densidades de *Enterococcus* sp. apresentaram correlações negativas para bactérias ($R = -0,549$) e microplâncton heterótrofo ($R = -0,144$). Correlações positivas foram observadas entre cianobactérias ($R = 0,317$), nanoflagelados heterótrofos ($R = 0,197$), microplâncton autótrofo ($R = 0,394$) e nanoflagelado autótrofo ($R = 0,064$), sendo que este último apresentou um valor muito fraco para correlação (Figura 27).

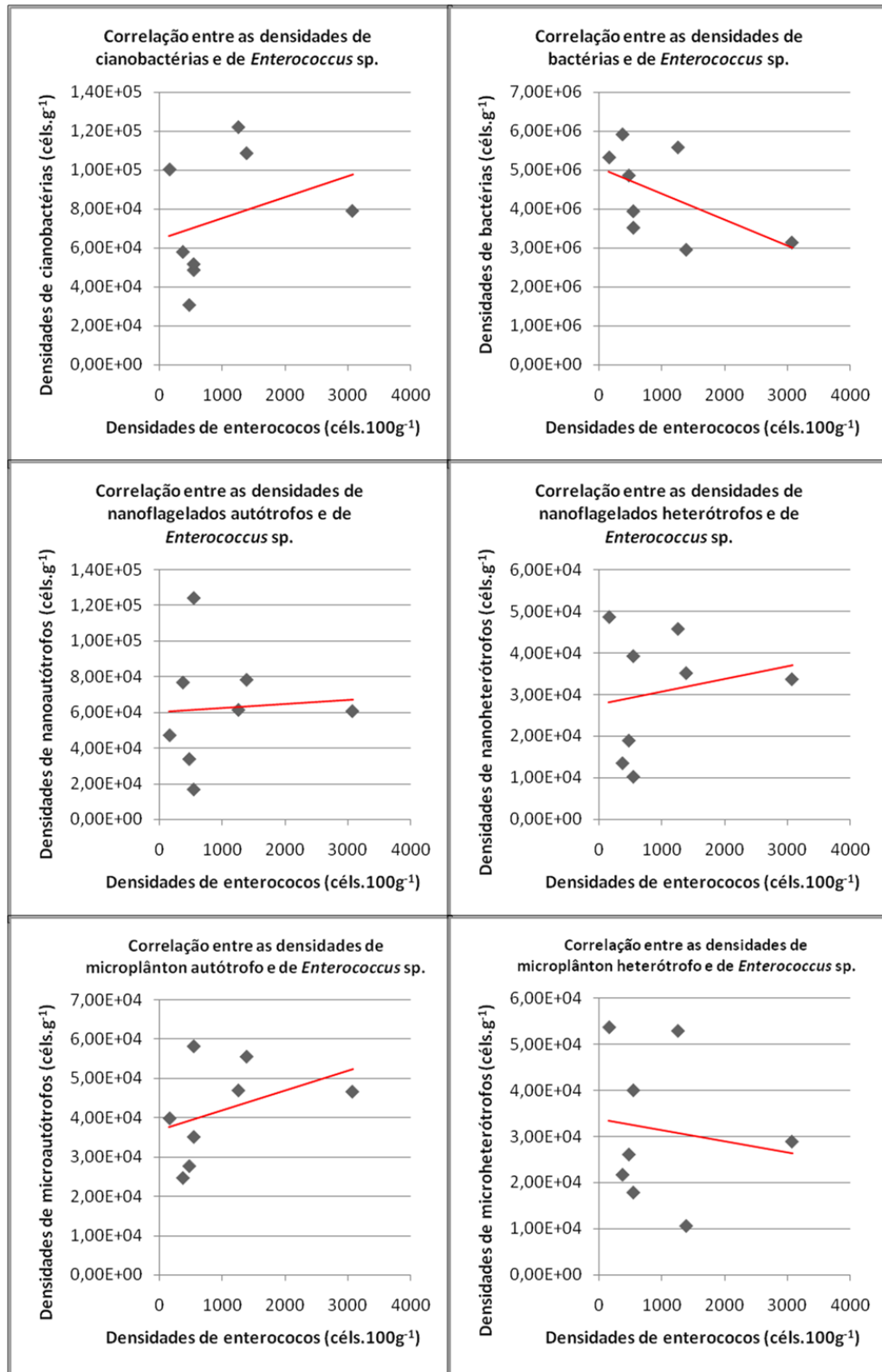


Figura 27: Correlações entre as densidades dos microrganismos pertencentes à alça microbiana com as densidades de *Enterococcus* sp. do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.

4.5.6. Indicadores de Contaminação Fecal X Matéria Orgânica

A partir das análises realizadas foram observados valores relativamente altos de correlações positivas dos indicadores de contaminação fecal *Escherichia coli* ($R=0,5769$) e *Enterococcus* sp. ($R=0,6333$) com os valores da matéria orgânica (Figura 28).

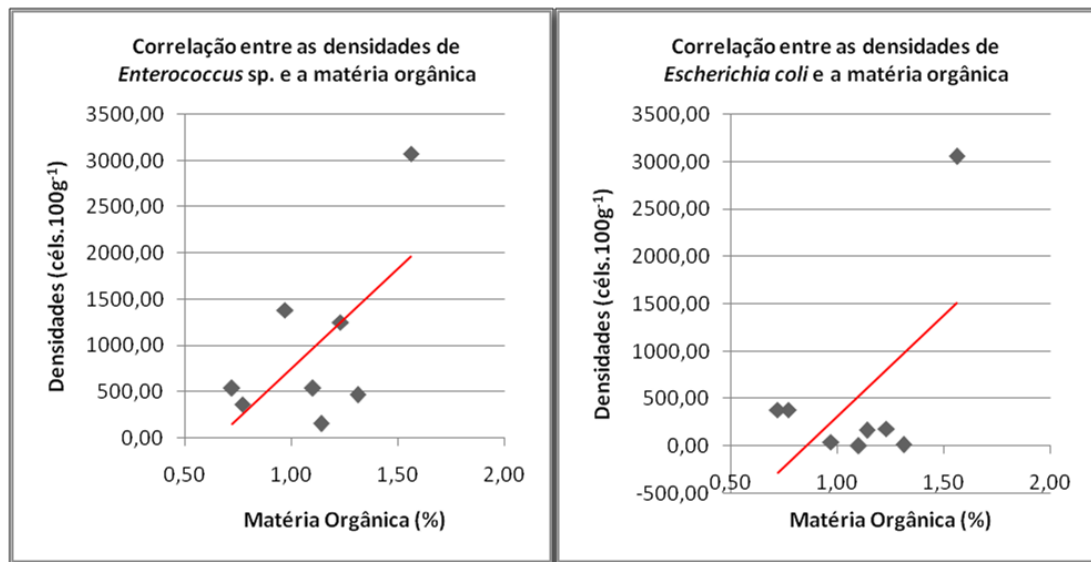


Figura 28: Correlações entre as densidades dos indicadores de contaminação fecal e a matéria orgânica do sedimento das praias de Domingas Dias e Itaguá.

Estes resultados mostram que a quantidade de matéria orgânica e as densidades de indicadores de contaminação fecal no sedimento estão intimamente ligados, indicando que a descarga de poluentes orgânicos pode aumentar tanto a quantidade de matéria orgânica quanto as densidades de microrganismos indicadores de contaminação fecal. Foram observados maiores correlações das densidades de microrganismos pertencentes à alça microbiana com as densidades de indicadores de contaminação fecal do que com a matéria orgânica. Este resultado pode mascarar o efeito das oscilações de densidades de indicadores de contaminação fecal sobre as densidades dos microrganismos da alça microbiana, pois os últimos podem parecer estar sendo controlados pela matéria orgânica mas na verdade mostraram que sofrem maior interferência dos indicadores de contaminação fecal. A preferência dos nanoflagelados heterótrofos pelo consumo de

cianobactérias na praia de Domingas Dias e de bactérias na praia de Itaguá pareceram estar ligadas à quantidade de matéria orgânica no sedimento, porém não houve correlação significativa entre matéria orgânica com as densidades de cianobactérias e bactérias

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As areias de praias são ambientes difíceis de analisar como um todo já que sofrem influências tanto terrestres quanto marinhas. Apesar da praia de Itaguá possuir uma classificação imprópria para uso de contato primário durante a segunda coleta de verão foi observada a ausência de valores acima dos limites de indicadores de contaminação fecal considerados neste trabalho. Este resultado pode ter ocorrido devido aos mosaicos de contaminação que podem ocorrerem ambientes no qual a homogeneização não é constante como da água do mar, ou até mesmo pela descarga de esgotos domésticos lançados diretamente ao mar sem contato prévio com este trecho do sedimento.

Os maiores valores encontrados de densidades de indicadores de contaminação fecal foram obtidos após um período de feriado prolongado com grande pluviosidade, mostrando que tanto o aumento da população flutuante quanto as chuvas podem contribuir para a chegada e disseminação destes microrganismos. As densidades de indicadores de contaminação fecal apresentaram forte correlação positiva com as porcentagens de matéria orgânica.

As porcentagens de matéria orgânica foram maiores em ambientes que possuíram em sua análise granulométrica maiores porcentagens de grãos de tamanho areia fina e areia muito fina. Também foi observada uma grande relação entre indicadores de contaminação fecal e matéria orgânica, indicando uma influência nas quantidades de matéria orgânica tanto por parte dos indicadores de contaminação fecal quanto pela granulometria do sedimento da praia de Itaguá.

As correlações negativas observadas entre os dados de temperatura e microplâncton heterótrofo, cianobactérias e nanoflagelados heterótrofos indicam que a temperatura surte efeito sobre as flutuações nas densidades desses microrganismos ao longo do tempo.

Foram visualizadas diferenças entre as densidades dos microrganismos das praias de Domingas Dias e Itaguá. Os microrganismos heterótrofos apresentaram maiores densidades no ambiente mais poluído, enquanto que os autótrofos apresentaram maiores densidades no ambiente menos poluído, com exceção das cianobactérias, as quais apresentaram uma correlação positiva significativa com as

densidades de *Enterococcus* sp., além de serem bastante representativas em ambientes contaminados por hidrocarbonetos.

Os organismos pertencentes ao microplâncton heterótrofo apresentaram correlações positivas e significativas com as porcentagens de matéria orgânica e os indicadores de contaminação fecal presentes no sedimento, mostrando que estes microrganismos podem sofrer influências dos dois fatores para aparecerem em uma densidade maior na praia de Itaguá. Já as bactérias apresentaram correlação negativa e significativa com os indicadores de contaminação fecal.

A partir das flutuações dos microrganismos foi possível visualizar também uma relação entre o crescimento de microplâncton heterótrofo concomitante ao decréscimo de microrganismos do picoplâncton e do nanoplâncton, indicando que estes podem controlar as populações dos microrganismos de tamanho menor do que ele. Porém, parece haver uma preferência pelo consumo de cianobactérias e nanoflagelados autótrofos no período de inverno e consumo de bactérias no verão. As maiores porcentagens de matéria orgânica no período de inverno podem provocar a eutrofização do ambiente, aumentando as densidades de cianobactérias e conseqüentemente favorecendo o crescimento do microplâncton heterótrofo. Além disso a correlação observada neste trabalho entre as densidades de cianobactérias e de indicadores de contaminação fecal parecem contribuir para o aumento da população de cianobactérias na praia de Itaguá. Porém, os microrganismos mostraram uma maior relação com os indicadores de contaminação fecal do que com as quantidades de matéria orgânica, mostrando que a poluição por esgotos pode interferir na dinâmica da alça microbiana.

Desta forma, as alterações nas flutuações dos microrganismos da alça microbiana mostraram que a sua estrutura e dinâmica podem sofrer alterações advindas de diversos fatores, isolados ou em conjunto, como as descargas de efluentes orgânicos, as quantidades de matéria orgânica e os valores de temperatura do sedimento. A alça microbiana mostra ter um papel fundamental para a transferência de matéria e energia para níveis superiores da cadeia alimentar, principalmente em períodos oligotróficos do ano, ocorrendo alternâncias sazonais das atividades alimentares dos predadores dependendo do status trófico e da poluição do ambiente.

6. REFERÊNCIAS

- ABAE. ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL. **Monitorização da Qualidade das Areias em Zonas Balneares**. Relatório, novembro 2008. Disponível em: <http://www.abae.pt/programa/BA/projectos/areias/2010/docs/relatorio_da_ABAE_2011_02_10.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2014.
- ABREU, P. C.; BIDDANDA, B.; ODEBRECHT, C. Bacterial dynamics of the Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil (32°S - 52°W); relationship with phytoplankton production and suspended material. **Estuarine and Coastal Shelf Science**, v. 35, p. 621-635. 1992.
- ABREU, P. C. & ODEBRECHT, C. Space and time variability of bacteria in the Patos Lagoon – Southern Brazil (32°S - 52°W). In: International Symposium on Microbial Ecology, 7., Santos, 1995. p. 58.
- ALM, E. W.; BURKE, J.; SPAIN, A. Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches. **Water Research**. v. 37, p. 3978-3982. 2003.
- ALONGI, D. M. Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. **Microbial Ecology**, v. 15, p. 59-79. 1988.
- ANDERSEN, P. & FENCHEL, T. Bacterivory by microheterotrophic flagellates in seawater samples. **Limnology and Oceanography**, v. 30, p. 198-202. 1985.
- ANDRADE, L.; GONZALEZ, A. M.; VALENTIN, J. L.; PARANHOS, R. Bacterial abundance and activity in the southwest Atlantic Ocean. **Hydrobiologia** (The Hague), v. 511, p. 103-111. 2004.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20. ed. Washington DC: APHA, AWWA, WEF, 1999. 1120 p.
- AYO, B.; SANTAMARIA, E.; LATATU, A.; ARTOLOZAGA, A.; IRIBERRI, J. Grazing rates of diverse morphotypes of bacterivorous ciliates feeding on four allochthonous bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 33, p. 455-460. 2001.

- AZAM, F.; FENCHEL, T.; FIELD, J. G.; MEYER-REIL, R. A.; THINGSTAD, F. The ecological role of water-column microbes in the sea. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 10, p. 257-263. 1983.
- BARLOW, J. C.; LORENZEN, C.; MYREN, R. Eutrophication of a tidal estuary. **Limnology and Oceanography**, v. 8, n. 2, p. 251-262. 1963.
- BARRETTA-BEKKER, J. G.; BARRETTA, J. W.; HANSEN, A. S.; RIEMANN, B. An improved model of carbon and nutrient dynamics in the microbial food web in marine enclosures. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 14, p. 91-108. 1998.
- BARTH, H. J. The influence of cyanobacteria on oil polluted intertidal soils of the Saudi Arabian Gulf shores. **Marine Pollution Bulletin**. v.46, p.1245-1252. 2003.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. Dispõe sobre os critérios de balneabilidade em águas. **Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 jan. 2001. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conamalegiabre.cfm?codlegi=272>>. Acesso em: 2 fev. 2013.
- BRATBAK, G. & HELDAL, M. Viruses rule the waves - the smallest and most abundant members of marine ecosystems. **Microbiology Today**, v. 27, p. 171-173. 2000.
- BRUNKE, M. & FISCHER, H. Hyporheic bacteria – relationships to environmental gradients and invertebrates in a prealpine stream. **Archiv fuer Hydrobiologie**, v. 146, n. 2, p. 189-217. 1999.
- BURTON, G. A.; GUNNISON, D. Jr.; LANZA, G. R. Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, p. 663-638. 1987.
- CARON, D. A.; LIM, L. E.; MICELLI, G.; WATERBURY, J. B.; VALOIS, F. W. Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 76, p. 205-217. 1991.
- CETESB (São Paulo). 2005. Relatório de qualidade das águas litorâneas do Estado de São Paulo: balneabilidade das praias 2004.

- CETESB (São Paulo). 2007. Relatório de qualidade das praias litorâneas no Estado de São Paulo 2006.
- CETESB (São Paulo). 2013. Relatório de qualidade das praias litorâneas no Estado de São Paulo 2012.
- CHAN, K. Y.; WONG, S. H.; MAK, C. Y. Effects of bottom sediments on the survival of *Enterobacter aerogenes* in seawater. **Marine Pollution Bulletin**, v. 10, p. 205-210. 1979.
- DARAKAS, E. *E. coli* kinetics: effect of temperature on the maintenance and repectively the decay phase. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 78, p. 101-110. 2002.
- D'AZEVEDO, P. A.; DIAS, C. A. G.; LEMOS, S. K. Antimicrobial susceptibility among *Enterococcus* isolates from the city of Porto Alegre, RS, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, n. 3, p.199-204. 2004.
- DAVIES, C. M. & BAVOR, H. J. The fate of stormwater associated bacteria in constructed wetland and water pollution control pond systems. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, n. 2, p. 349-360. 2000.
- DAVIES, C. M.; LONG, J. A. H.; DONALD, M.; ASHBOLT, N. J. Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.5, p.1888-1896. 1995.
- DAVIES-COLLEY, R. J.; DONNISON, A. M.; SPEED, D. J.; ROSS, C. M.; NAGELS, J. W. Inactivation of fecal indicator microorganisms in waste stabilization ponds: interactions of environmental factors with sunlight. **Water Research**, v. 33, n. 5, p. 1220-1230. 1999.
- DUCKLOW, H. W. The bacterial component of the oceanic euphotic zone. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 30, p. 1-10. 1999.
- FENCHEL, T. Ecology of heterotrophic microflagelattes: IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 9, p. 35-42. 1982.

- FENCHEL, T. **Ecology of marine protozoa**. CAPRIULO, G. M. New York: Ed. Oxford, 1990, 225 p.
- FERNANDES, A. J. & MESQUITA, H. de S. L. Estudo quantitativo da população microbiana da região de Ubatuba, Estado de São Paulo: inverno. In: Simpósio sobre Oceanografia IOUSP. **Resumos**. São Paulo: Instituto Oceanográfico, 1991, 94 p.
- FERNANDES, A.J. & MESQUITA, H. de S. L. Estudo quantitativo da população microbiana da região de Ubatuba, Estado de São Paulo: verão. In: Simpósio sobre Oceanografia IOUSP. **Resumos**. São Paulo: Instituto Oceanográfico, 1991b, 93 p.
- FERNANDES, A. J. **Estudo quantitativo da bacterivoria por microflagelado heterótrofo**. 1995. 186 p. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
- FOGG, G. E. Some comments on picoplankton and its importance in the pelagic ecosystem. **Aquatic microbial ecology**, v. 9, p. 33-39, 1995.
- FUHRMAN, J. A. & NOBLE, R. T. Viruses and protists cause similar bacterial mortality in coastal seawater. **Limnology and Oceanography**, v. 40, p. 1236-1242. 1995.
- GAETA, S. A.; TEIXEIRA, C.; ABE, D. S.; LOPES, R. M.; SUSINI, S. M. Size fractionation of primary production and phytoplankton biomass on inshore waters of Ubatuba region, Brazil. **Publicação especial do Instituto Oceanográfico**, v. 11, p. 153-162. 1995.
- GHINSBERG, R. C.; LEIBOWITZ, P.; WITKIN, H.; MATES, A.; SEINBERG, Y.; BAR, D. L.; NITZAN, Y.; ROGOL, M. Monitoring of selected bacteria and fungi in sand and seawater along the Tel Aviv coast. **MAP Technical Reports Series**, v. 87, p. 65 - 81. 1994.
- GONZALEZ, A. M.; PARANHOS, R.; ANDRADE, L.; VALENTIN, J. L. Bacterial production in Guanabara Bay (Rio de Janeiro, Brazil) evaluated by 3H-leucine incorporation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 5, p. 493-500. 2000.
- GROSS, M. G. Carbon determination. In: Carver, R. E. **Procedures in Sedimentology Petrology**. New York: Wiley Interscience, 1971. p. 49-94.

- HALL, J. A.; BARRETT, D. P.; JAMES, M. R. The importance of phytoflagellate, heterotrophic flagellate and ciliate grazing on bacteria and picophytoplankton sized prey in a coastal marine environment. **Journal of Plankton Research**, v. 15, n. 9, p. 1075-1086. 1993.
- HANCOCK, L.E. & GILMORE, M.S. Pathogenicity of Enterococci. In: Fischetti, V. et al. **Gram-Positive Pathogens**. Washington D.C.: ASM Publications. Disponível em: <http://www.enterococcus.ouhsc.edu/lynn_revirew.asp>. Acesso em: 14 set. 2006.
- HARWOOD, V. J.; WHITLOCK, J.; WITHINGTON, V. Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 9, p. 3698-3704. 2000.
- HOBBIE, J. E.; DALEY, R. J.; JASPER, S. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, p. 1225-1228. 1977.
- HUYCKE, M. M.; SAHM, D. F.; GILMORE, M. S. Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 4, n. 2, p. 239-249. 1998.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2013. **Estimativas da População Residente nos Municípios Brasileiros com Data de Referência em 1º de Julho de 2013**.
- KOLM, H. E. & ANDRETTA, L. Bacterioplankton in different tides of the Perequê Tidal Creek, Pontal do Sul, Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 97-103. 2003.
- KOLM, H. E.; SCHOENENBERGER, M. F.; PIEMONTE, M. R.; SOUZA, P. S. A.; SCÜHLI, G. S.; MUCCIATTO, M.; MAZZUCO, R. Spatial variation of bacteria in surface waters of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 27-34, 2002.
- KORMAS, K. A.; KAPIRIS, K.; THESSALOU-LEGAKI, M.; NICOLAIDOU, A. Quantitative relationships between phytoplankton, bacteria and protists in an Aegean semi-enclosed embayment (Maliakos Gulf, Greece). **Aquatic Microbial Ecology**, v. 15, p. 255-264. 1998.

- KUOSA, H. Picoplanktonic cyanobacteria in the northern Baltic Sea: seasonal dynamics and flagellate grazing. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 73, p. 269-276. 1991.
- LaLIBERTE, P. & GRIMES, D. J. Survival of *Escherichia coli* in lake bottom sediment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, p. 623-628. 1982.
- MACFAYDEN, A. Energy flow in ecosystems and its exploitation by grazing. In: CRISPIE, D. J. (Ed.) **Grazing in terrestrial and marine environments**. Oxford: Blackwell, 1964. p. 3-20.
- MAHIQUES, M. M. **Considerações sobre os sedimentos de superfície de fundo da Baía da Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro**. 1987. 140 p. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. Instituto Oceanográfico, São Paulo, 1987.
- MANN, K. **Ecology of coastal waters, a systems approach**. Berkley: University of California Press, 1982. 322 p.
- MARTINEZ, D. I. **Differences of the microbial dynamics between sewage polluted and non-polluted estuaries**. 2009. 36 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São Vicente, 2009.
- MENDES, B.; NASCIMENTO, M. J.; OLIVEIRA, J. S. Preliminary characterization and proposal of microbiological quality standard of sand beaches. **Water Science and Technology**, v. 27, p. 453-456. 1993.
- MESQUITA, H. de S. L. Densidade e distribuição do bacterioplâncton nas águas de Ubatuba (23° S 45° W), Estado de São Paulo. **Publicação especial do Instituto Oceanográfico**, v. 10, p. 45-63. 1993.
- MESQUITA, H. de S. L. & FERNANDES, A. J. Variação de curta escala temporal de bactérias, picofitoplâncton e nanoheterótrofos na região de Ubatuba-SP, Brasil. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 44, n. 1, p. 47-56. 1996.
- MESQUITA, H. de S. L. & FERNANDES, A. J. Oscilação da maré e dinâmica das relações entre o nano- e o picoplâncton em uma estação fixa em Ubatuba (23° S 45° W). **Atlântica**, v. 20, p. 105-119. 1998.

- METZLER, P. M.; GILBERT, P. M.; GAETA, A. S.; LUDLAM, J. M. Contrasting effects of substrate and grazer manipulations on picoplankton in oceanic and coastal waters off Brazil. **Journal of Plankton Research**, v. 22, n. 1, p. 77-90. 2000.
- MONGER, B. C.; LANDRY, M. R.; BROWN, S. L. Feeding selection of heterotrophic marine nanoflagellates based on the surface hydrophobicity of their picoplankton prey. **Limnology and Oceanography**, v. 44, n. 8, p. 1917-1927. 1999.
- MURRAY, B. E. The life and times of the Enterococcus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, n. 1, p. 46-65. 1990.
- MURRAY, B. E. Diversity among multidrug-resistant enterococci. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 4, n. 1, p. 37-47. 1998.
- OBIRI, D. K. & JONES, K. Intertidal sediments as reservoirs for hippurate negative campylobacters, salmonellae and fecal indicators in three EU recognised bathing waters in North West England. **Water Research**, v. 34, n. 2, p. 519-527. 2000.
- OLIVEIRA, A. J. F. C. **Regeneração de nutrientes por alguns componentes da alça microbiana**. 2000. 95 p. + anexos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, São Paulo, 2000.
- OLIVEIRA, A. J. F. C. & PINHATA, J. M. W. Antimicrobial resistance and species composition of Enterococcus spp. isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. **Water Research**, 2007.
- OLIVEIRA, A. J. F. C.; PINTO, A. B.; SIQUEIRA, V. P.; FRANÇA, P. T. R.; SAMICO, M. L.; PINHATA, J. M. W.; FONTES, R. C. Densidade de Escherichia coli e de Enterococcus sp em areias de praias do Município de São Vicente, Estado de São Paulo, e sua relação com a qualidade de águas recreacionais marinhas. In: Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar, n. 2., 2007. Florianópolis, **Resumos**, 2007.
- PASSOS, C. T.; SILVA, A. P. R.; BRAGA, A. R. C.; SANZO, A. V. L.; KALIL, S. J. Variação Sazonal da Contaminação por Coliformes na Areia e Água da Praia do Cassino, Rio Grande – RS. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 44, n.1, p. 21-26. 2011.

- PEREIRA, C. R. **Densidade de Bactérias Heterotróficas, Cianobactérias e Nanoflagelados Heterótrofos em dois Estuários do Estado de São Paulo.** 2011. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São Vicente, 2011.
- PINTO, A. B. & OLIVEIRA, A. J. F. C. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 105-114. 2011.
- PINTO, A. B.; OLIVEIRA, A. J. F. C.; PEREIRA, C. R. Densidade de *Enterococcus* sp. em águas recreacionais e areias de praias do município de São Vicente-SP, Brasil e sua relação com parâmetros abióticos. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 587-593. 2012.
- POMEROY, L. R. The ocean's food web, a changing paradigm. **BioScience**, v. 24, p. 499-504. 1974.
- POMEROY, L. R. Building bridges across subdisciplines in marine ecology. **Scientia Marina**, v. 69, n. 1, p. 5-12. 2004.
- POMEROY, L. R.; ATKINSON, L. P.; BLANTON, J. O.; CAMPBELL, W. B.; JACOBSEN, T. R.; KERRICK, K. H.; WOODS, S. M. Microbial distribution and abundance in response to physical and biological processes on the continental shelf of southeastern USA. **Continental Shelf Research**, v. 2, p. 1-20. 1983.
- POMEROY, L.R.; WILLIAMS, P. J. le B.; AZAM, F.; HOBBI, J. E. The microbial loop. **Oceanography**, v. 20, n. 2, p. 28-33. 2007.
- PORTER, K. G. & FEIG, Y. S. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. **Limnology and Oceanography**, v. 17, p. 943-948. 1980.
- ROBINSON, C. & WILLIAMS, P. J. le B. Respiration and its measurement in surface marine waters. In: del Giorgio, P. A. & WILLIAMS, P. J. le B. **Respiration in Aquatic Ecosystems**. Oxford: Oxford University Press, 2005. p. 147-180.
- SABESP (Ubatuba). **A SABESP no município.** 2014. Disponível em: <<http://site.sabesp.com.br/site/interna/Municipio.aspx?secaoId=18&id=623>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

- SMA. SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE. **Plano de Manejo do Parque Estadual da Serra do Mar**. Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal, Divisão de Reservas e Parques Estaduais. São Paulo: SMA, 2006, 441p.
- SMAC. SECRETARIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO. **Resolução SMAC nº 468 de 28 de dezembro de 2000**. Dispõe sobre a análise e informações das condições das areias das praias do Município do Rio de Janeiro. 2000.
- SMAC. SECRETARIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO. **Resolução SMAC Nº 81 de 28 de dezembro de 2000**. Dispõe sobre a análise e informações das condições das areias das praias no Município do Rio de Janeiro. D.O. 29 jan. 2010. ANO XXIII. n. 211.
- SHERR, B. F.; SHERR, E. B.; ANDREW, T. L.; FALLON, R. D.; NEWELL, S. Y. Trophic interactions between heterotrophic Protozoa and bacterioplankton in estuarine water analyzed with selective metabolic inhibitors. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 32, p. 169-179. 1986.
- SHERR, E. B. & SHERR, B. F. Role of microbes in pelagic food webs: A revised concept. **Limnology and Oceanography**, v. 33, p. 348-351. 1988.
- SINTON, L. W.; DAVIES-COLLEY, R. J.; BELL, R. G. Inactivation of enterococci and fecal coliforms from sewage and meat – works effluents in seawater chambers. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 6, p. 2040-2048. 1994.
- STEELE, J. H. **The structure of marine ecosystems**. Massachusetts: Harvard University of Cambridge, 1974.
- SUGUIO, K. **Introdução a sedimentologia**. São Paulo: EDUSP, 1973. 312 p.
- SUTTLE, C. A. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities. **Microbial Ecology**, v. 28, p. 237-243. 1994.
- TARIFA, J. R. & AZEVEDO, T. R. **Os climas da cidade de São Paulo**: teoria e prática. São Paulo: FFLCH/USP, 2001. 199 p.

- TENG, L. J.; HSUEH, P. R.; TSAI, J. C.; CHEN, P. W.; HSU, J. C.; LAI, H. C.; LEE, C. N.; HO, S. W. *groESL* Sequence determination, phylogenetic analysis, and species differentiation for viridans group streptococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 3172-3178. 2002.
- THINGSTAD, T. F. Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. **Limnology and Oceanography**, v. 45, p. 1320-1328. 2000.
- VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; MENEZES, E. A; EVANGELISTA, N. S. S.; REIS, E. M. F.; BARRETO, L. M.; GONÇALVES, F. A. Microbial contamination of sand from major beaches in Fortaleza, Ceará State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 77-80. 2001.
- VILLAR, C.; De CABO, L.; VAITHIYANATHAN, P.; BONETTO, C. Pore water N and P concentration in a floodplain marsh of the Lower Parana River. **Hydrobiologia**, v. 392, n.1, p. 65-71. 1999.
- WATERBURY, J. B.; WATSON, S. W.; VALOIS, F. W.; FRANKS, D. G. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. **Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 214, p. 71-120. 1987.
- WEISS, C. & WILKES, F. Estuarine ecosystems that receives sewage wastes. In: ODUM, H. T.; COPELAND, B. J.; McMAHAN, E. (Eds.) **Coastal ecological systems of the United States**. Washington, D. C.: The Conservation Foundation, 1974. v. 3, p. 71-111.
- WHITMAN, R. L. & NEVERS, M. B. Foreshore sand as a source of *Escherichia coli* in nearshore water of a lake Michigan Beach. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 9, p. 5555-5562. 2003.
- WHO. 2003. **Guidelines for Safe Recreational waters**: Water Environments. v. 1: Coastal and Fresh-Waters. Geneva: World Health Organization, 2003. 208 p.