

REMOÇÃO DE *Escherichia coli* DE EFLUENTES DE CARCINICULTURA POR MACRÓFITAS AQUÁTICAS FLUTUANTES

REMOVAL OF *Escherichia coli* OF SHRIMP EFFLUENT BY FREE-FLOATING AQUATIC MACROPHYTES

F. R. PINTO¹, M. N. P. HENARES², C. CRUZ³, L. A. AMARAL¹

RESUMO

Os efluentes gerados pelo cultivo de camarões podem provocar impactos negativos nos ecossistemas aquáticos, devido à presença de altas concentrações de compostos inorgânicos e orgânicos e patógenos. Os sistemas de tratamento de efluentes com macrófitas aquáticas pode ser uma alternativa viável para minimizar esses impactos. Objetivou-se avaliar a eficiência de um sistema de tratamento com duas espécies de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta*) na remoção da *Escherichia coli* do efluente de carcinicultura e quantificar a concentração de coliformes termotolerantes nas raízes das macrófitas. Os sistemas de tratamento foram constituídos por nove unidades experimentais (três com *E. crassipes*, três com *S. molesta* e três com *E. crassipes* e *S. molesta*). A determinação do número mais provável (NMP) de *E. coli*, nos afluentes e efluentes dos sistemas, foi realizada segundo a técnica do substrato cromogênico-fluorogênico-hidrolizável. A determinação do NMP de coliformes termotolerantes nas raízes das macrófitas foi realizada pela técnica dos tubos múltiplos. O tratamento dos efluentes reduziu significativamente a contaminação por *E. coli*. A *E. crassipes* apresentou melhor resultado, pois removeu maior porcentagem de *E. coli* dos efluentes tratados (88,23%), e as raízes dessa macrófita retiveram maior quantidade de coliformes termotolerantes.

PALAVRAS-CHAVE: Aquicultura, Coliformes, *Eichhornia crassipes*, *Salvinia molesta*.

SUMMARY

The effluent from the of shrimp farms is responsible for negative impacts in aquatic ecosystems, because of high levels of inorganic and organic compounds and pathogens. The aquatic macrophyte effluent treatment system is an alternative to minimize this impact. The objective was to evaluate the efficiency of the treatment system with two species of aquatic floating macrophytes (*Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta*) in the removal of *Escherichia coli* from the effluents of a shrimp farm and quantify the concentration of the termotolerant coliforms in the macrophytes's roots. The treatment system was made of nine box (three with *E. crassipes*, three with *S. molesta* and three with *E. crassipes* and *S. molesta*). The analysis of *E. coli* were performed with the substrate chromogenic-fluorogenic-hidrolized technique. The most probable number of termotolerant coliforms in the roots of macrophytes was performed with the multiple tubes technique. The treatment of the effluents reduced the *E. coli* contamination. The *E. crassipes* showed the better results, because it removed the greater percentage of *E. coli* from the treated effluents (88.23%) and it's roots retained higher quantities of termotolerant coliforms.

KEY-WORDS: Aquiculture. Coliforms. *Eichhornia crassipes*. *Salvinia molesta*.

1* Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV - UNESP, Jaboticabal, Via de Acesso Paulo Donato Castellani, s/n. CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP, Fone (16) 3202646. f_rezendevet@yahoo.com.br

2 Centro de Aqüicultura da UNESP.

3 Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia da FCAV/UNESP, Jaboticabal.

INTRODUÇÃO

Um dos problemas ambientais da aquicultura está associado aos patógenos que acompanham as espécies cultivadas. A presença desses patógenos, incluindo os de origem fecal, nos efluentes aquícolas relaciona-se à utilização de água contaminada para a produção, além da contaminação exógena dos viveiros (RANZANI-PAIVA et al., 1997).

A ausência de tratamento nos efluentes e sua destinação incorreta contribuem para agravar os problemas ambientais e de saúde pública. Diante disso, muitos trabalhos foram desenvolvidos na busca de tecnologias capazes de minimizar a contaminação dos efluentes antes de seu lançamento nos corpos receptores (CUNHA, 2006).

Entre os sistemas de tratamento de efluentes destacamos os que utilizam macrófitas aquáticas para melhorar a qualidade de águas residuais, buscando a redução das concentrações de poluentes inorgânicos, metais, substâncias tóxicas, e de microrganismos patogênicos e indicadores, como coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (DINIZ et al., 2005, HUSSAR et al., 2005, OTTOSON et al., 2005). Nesse tipo de sistema, os poluentes são removidos pela combinação de processos físicos, químicos e biológicos, incluindo sedimentação, precipitação, adsorção de partículas, assimilação pelo tecido da planta e transformação bacteriana (BRIX & SCHIERUP, 1989).

Alguns trabalhos mostram a capacidade das macrófitas aquáticas de remover bactérias patogênicas da água: reduções de coliformes em esgoto doméstico e industrial com a utilização de aguapé (*Eichhornia crassipes*) (TRIPATHI & SHUKLA, 1991); reduções de coliformes termotolerantes entre 35 e 98% e de estreptococos fecais entre 35 e 88%, após a passagem da água pelo banco de macrófitas formado por *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Typha* spp. (DINIZ et al., 2005).

O sistema radicular do aguapé funciona como um filtro, retendo os materiais orgânicos e minerais da água, além de criar um ambiente rico em fungos e bactérias predadoras que reduzem a população de coliformes da água. Além disso, a remoção de poluentes decorre da existência de abrigo e condições para o crescimento de uma importante biota agregada, o perífiton, às suas raízes e folhas, que exerce papel importante na degradação, assimilação e remoção dos poluentes (CRONK, 1996).

Os objetivos do trabalho foram avaliar a eficiência das macrófitas aquáticas *E. crassipes* e *Salvinia molesta* na remoção da bactéria *Escherichia coli* do efluente de viveiro de camarões-de-água-doce e quantificar os coliformes termotolerantes nas raízes das macrófitas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Faculdade de Ciências Agrárias de Veterinárias da Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP (21° 18' S e 48° 18' W), no Setor da Carcinicultura do Centro de Aquicultura da Unesp,

durante 60 dias (março e abril de 2007). As macrófitas aquáticas flutuantes foram coletadas em ecossistemas lóticos bem preservados localizados na bacia do Itanhaém, no Estado de São Paulo (24° 11' S e 46° 48' W). O efluente utilizado foi proveniente de um viveiro de 200 m² com reprodutores de camarão-de-água-doce (*M. amazonicum*), com manejo alimentar efetuado manualmente, à vontade, duas vezes ao dia, com ração peletizada comercial.

O sistema de tratamento do efluente constituiu-se de nove unidades experimentais de fibra de vidro com dimensões de 1,0 m de largura, 2,0 m de comprimento e 0,5 m de profundidade. O tempo de residência do efluente em cada unidade foi de aproximadamente 12 h, com vazão de 1,4 L minuto⁻¹. O delineamento experimental constituiu de três tanques com *E. crassipes*, três com *S. molesta* e três com *E. crassipes* + *S. molesta*. Nos nove tanques, a biomassa preencheu aproximadamente 80% da superfície das unidades experimentais. No tratamento com as duas plantas, as macrófitas foram dispostas em série, permitindo que o efluente passasse primeiro pela *E. crassipes* e em seguida pela *S. molesta*.

A porcentagem de remoção de *Escherichia coli* das amostras de efluentes tratados foi calculada pela equação:

$$R = 100 - [(100 \times C_{\text{etrat}}) / C_e] \quad (1)$$

em que:

R - Porcentagem de remoção;

C_{etrat} - NMP/100 mL de *E. coli* no efluente tratado;

C_e - NMP/100 mL de *E. coli* no efluente do viveiro.

Determinação do número mais provável (NMP) de *Escherichia coli* nas amostras dos efluentes tratados pelas macrófitas (APHA, 1998)

Para a determinação do NMP de *E. coli*, semanalmente foram colhidas, de maneira asséptica, diretamente dos tanques, em frascos de vidro esterilizados, as amostras do efluente gerado pelo viveiro e dos efluentes tratados pelas macrófitas. A determinação do NMP de *E. coli* foi realizada segundo a técnica do substrato cromogênico-fluorogênico-hidrolizável, utilizando-se o meio de cultura Colilert (IDEXX Quanti-TrayTM).

Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes nas amostras de raiz das macrófitas pela técnica dos tubos múltiplos (APHA, 2001)

Para a determinação do NMP de coliformes termotolerantes, foram colhidas porções de raiz das macrófitas dos três tanques de cada tratamento, fazendo-se um “pool” de raiz por tratamento. No tratamento com *E. crassipes* e *S. molesta* juntas, foram colhidas amostras separadas para cada uma das espécies vegetais. As raízes foram colhidas com auxílio de tesoura e pinça estéreis e acondicionadas em frascos de vidros previamente esterilizados. A seguir, 25 g da amostra das raízes foram utilizados para quantificar essa bactéria, segundo a metodologia adaptada de APHA (2001).

Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos de *E. coli* e de coliformes termotolerantes foram submetidos a distribuição normal, e suas médias geométricas foram transformadas em $\log(x + 1,5)$. Essas médias foram submetidas a análise de variância (ANOVA), e as comparações das médias foram realizadas pelo Teste de Tukey 5% (STEEL & TORRIE, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu redução significativa nas médias geométricas dos NMP de *E. coli* nos efluentes dos tanques de tratamento, em relação ao efluente do viveiro de carcinicultura. O tratamento com a utilização do aguapé (*E. crassipes*) apresentou a menor contaminação por *E. coli* em seus efluentes. Não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos constituídos por *Salvinia molesta* e pelo consórcio das macrófitas *Eichhornia crassipes* e *Salvinia molesta* (Tabela 1).

Tabela 1 - Médias geométricas, coeficiente de variação e teste F dos números mais prováveis de *Escherichia coli* no efluente do viveiro e no efluente dos tanques de tratamento com as macrófitas.

Tratamentos	<i>Escherichia coli</i> (NMP 100 mL ⁻¹)
Efluente do viveiro	8,5 x 10 A
<i>Eichhornia crassipes</i>	1,0 x 10 C
<i>Salvinia molesta</i>	2,0 x 10 B
<i>Eichhornia crassipes</i> + <i>Salvinia molesta</i>	1,8 x 10 B
Coeficiente de variação (C.V.)	21,27
Teste F	36,32 **

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey. ** significativo, com 1% de probabilidade.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com diversos autores que também obtiveram redução na contaminação de efluentes após tratamento com as macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Typha* spp (DINIZ et al., 2005, CUNHA, 2006) e também por sistemas de tratamento com as macrófitas aquáticas enraizadas em substrato *Typha angustifolia*, *Hedychium coronarium* e *Coix lacryma-jobi* (ALMEIDA & ALMEIDA, 2005), *Typha* spp (BRASIL et al., 2005, HUSSAR et al., 2005).

A legislação brasileira não determina limites de coliformes termotolerantes para os efluentes de carcinicultura. No entanto, a contribuição do efluente não pode elevar a contagem dessa bactéria nos corpos d'água receptores acima do limite determinado para a classe 2 (10^3 NMP 100 mL⁻¹) (BRASIL, 2005). Assim, tanto os efluentes do viveiro como os efluentes dos tratamentos com macrófitas encontram-se de acordo com a legislação para a água de classe 2 (aquicultura e pesca), porém a utilização do tratamento de efluente com as macrófitas, realizado neste trabalho, melhorou a

qualidade do efluente final a ser lançado no corpo receptor, permitindo que maiores quantidades desse efluente possa ser liberado sem alterar as características da água.

As amostras de efluentes dos tanques de tratamento constituídos por *Eichhornia crassipes* apresentaram a maior porcentagem de remoção (88,23%) das médias geométricas dos NMP de *Escherichia coli*. O tratamento com *Salvinia molesta* apresentou a menor porcentagem de remoção de *E. coli* dos efluentes (76,47%) (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de remoção de *Escherichia coli* do efluente após os tratamentos

Tratamentos	Remoção (%)
<i>Eichhornia crassipes</i>	88,23
<i>Salvinia molesta</i>	76,47
<i>Eichhornia crassipes</i> + <i>Salvinia molesta</i>	78,82

Porcentagens de redução semelhantes a esse trabalho foram descritas por outros autores. Diniz et al. (2005) verificaram reduções de coliformes termotolerantes entre 35 e 98% e de estreptococos fecais entre 35 e 88%, após a passagem da água pelo banco de macrófitas formado por *E. crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Typha* spp. Van Kaick (2002) obteve redução de 94% dos coliformes em um sistema de tratamento com zona de raízes e atribuiu a redução à morte natural dos microrganismos em ambiente desfavorável e ao efeito tóxico de secreções radiculares sobre eles. Já Almeida & Almeida (2005) verificaram remoção acima de 99,5% de coliformes totais e fecais com a utilização de zona de raízes com fluxo subsuperficial das macrófitas *Typha angustifolia*, *Hedychium coronarium* e *Coix lacryma-jobi*.

Na Tabela 3, verifica-se que não ocorreu diferença significativa nas médias geométricas dos NMP de coliformes termotolerantes nas amostras das raízes das duas espécies de macrófitas nos diferentes tratamentos utilizados. O NMP dos coliformes variou de 40 g⁻¹ de raízes de *E. crassipes*, no consórcio constituído por *E. crassipes* + *S. molesta* a 210 g⁻¹ de raízes do tratamento apenas com o aguapé (*E. crassipes*).

Tabela 3 - Médias geométricas dos números mais prováveis de coliformes termotolerantes nas amostras de raízes das macrófitas dos tanques de tratamento, coeficiente de variação e teste F

Macrófitas	Coliformes termotolerantes (NMP g ⁻¹)
<i>Eichhornia crassipes</i>	2,1 x 10 ² A
<i>Eichhornia crassipes</i> (<i>E. crassipes</i> + <i>S. molesta</i>)	4,0 x 10 A
<i>Salvinia molesta</i>	7,1 x 10 A
<i>Salvinia molesta</i> (<i>E. crassipes</i> + <i>S. molesta</i>)	5,4 x 10 A
Coeficiente de variação (C.V.)	46,46
Teste F	1,23 ^{ns}

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey. ^{ns} não significativo.

A partir dos resultados apresentados nas Tabelas 1 e 3, pode-se sugerir que as raízes das macrófitas *E. crassipes* e *S. molesta* funcionaram como um filtro para a *E. coli* presente no efluente, pois apresentaram concentrações de coliformes termotolerantes em seu perifiton. As altas concentrações de *E. coli* nas raízes da *E. crassipes* sugerem que a maior ou menor cobertura d'água com essa macrófita flutuante podem influenciar as concentrações dessa bactéria nos corpos d'água, pois as raízes funcionam como uma barreira à passagem da água, favorecendo a precipitação das bactérias presentes e sua captura pelas raízes (EMILIANI, 2004).

Segundo Diniz et al. (2005), as macrófitas exercem efeito filtrador significativo sobre bactérias indicadoras de poluição fecal devido ao fato de suas raízes ficarem cobertas com material orgânico e mucilaginoso, permitindo a formação da comunidade perifítica, conforme observado nas raízes das macrófitas utilizadas neste trabalho.

CONCLUSÕES

Os três tratamentos utilizados para remoção de *E. coli* dos efluentes da carcinicultura apresentaram bons resultados, principalmente com a utilização de aguapé (*E. crassipes*), que apresentou a maior porcentagem de remoção de *E. coli* e a maior retenção de coliformes termotolerantes em suas raízes. Todos os efluentes tratados apresentaram-se de acordo com a legislação brasileira para descarte de efluentes em corpos receptores da classe 2. Assim, esse sistema de tratamento pode ser utilizado como uma alternativa eficiente, simples e de baixo custo no tratamento de efluente de carcinicultura.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. A., ALMEIDA, N. A. M. Remoção de coliformes do esgoto por meio de espécies vegetais. **Revista eletrônica de enfermagem**, v.7, n.3, p.306-317, 2005.

APHA, American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, Washington: APHA, 1998, 1220p.

APHA, American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington : APHA, 2001, 676p.

BRASIL. Resolução CONAMA n° 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília DF, 18 Mar. 2005. Seção Resoluções, p.19, 2005.

BRASIL, M. S., MATOS, A. T., SOARES, A. A., FERREIRA, P. A. Qualidade do efluente de sistemas alagados construídos, utilizados no tratamento de

esgoto doméstico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, p.133-137, 2005.

BRIX, H., SCHIERUP, H. H. The use of aquatic macrophytes in water - pollution control. **Ambio**, v.15, p.100-107, 1989.

CRONK, J. K. Constructed wetlands to treat wastewater from dairy and swine operations: a review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.58, p.97-114, 1996.

CUNHA, C. A. G. **Análise de eficiência de um sistema combinado de alagados construídos na melhoria da qualidade das águas**. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2006. 157p. Tese (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, 2006.

DINIZ, C. R., CEBALLOS, B. S. O., BARBOSA, J. E. L., KONIG, A. Uso de macrófitas aquáticas como solução ecológica para melhoria da qualidade de água. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, p.226-230, 2005.

EMILIANI, F. Effects of hydroclimatic anomalies on bacterial quality of the Middle Paraná River (Santa Fe, Argentina). **Revista Argentina de Microbiologia**, v.36, p.193-201, 2004.

HUSSAR, G. J., PARADELA, A. L., JONAS, T. C., RODRIGUES, J. P. Tratamento da água de escoamento de tanque de piscicultura através de leitos cultivados de vazão subsuperficial: análise da qualidade física e química. **Engenharia Ambiental**, v.2, n.1, p.46-59, 2005.

OTTOSON, J., NORSTROM, A., DALHAMMAR, G. Removal of micro-organisms in a small-scale hydroponics wastewater treatment system. **Letters in Applied Microbiology**, v.40, p.443-447, 2005.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. ISHIKAWA, C. M. CAMPOS, B. E. S. EIRAS, A. C. Haematological characteristics associated with parasitism in mullets, *Mugil platanus*, from the estuarine region of Cananéia, São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.14, n.2, p.329-339, 1997.

STEEL, R. G. D., TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: Mc Graw, 1960, 481p.

TRIPATHI, B. D., SHUKLA, S. C. Biological treatment of wastewater by selected aquatic plants. **Environmental Pollution**, v.69, p.69-78, 1991.

VAN KAICK, T. S. **Estação de tratamento de esgoto por meio de zona de raízes: uma proposta de tecnologia apropriada para saneamento básico no litoral do Paraná, Curitiba**. Curitiba: Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, 2002. 116 p. Tese (Mestrado em Tecnologia) - Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, 2002.