

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS NASCENTES DO RIO CASCAVEL E O COMPARATIVO COM O LEVANTAMENTO REALIZADO EM 2014

BARETTA, Débora F.¹

FRUET, Thomas K.²

RESUMO

De toda água que existe no planeta, 97% são salgadas, 2% formam as geleiras e apenas 1% é água doce. O Brasil é o país mais rico em água potável, reunindo 18% do potencial de água da superfície do planeta e 8% das reservas mundiais. Sendo assim, é de grande importância a análise microbiológica da água para fazer a verificação da qualidade higiênico-sanitária, por meio da pesquisa de indicadores de poluição fecal. Diante disso, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a qualidade da água das minas afluentes do Rio Cascavel, localizado no fragmento 1 do Parque Ecológico Paulo Gorski em Cascavel – Paraná, com relação a presença de *Escherichia coli* e realizar o comparativo com os resultados de um levantamento realizado em 2014 e avaliar se os resultados podem ter relação com o índice pluviométrico ou se sofreu alguma interferência humana, sendo que esse quesito vai ser avaliado pelos Protocolos De Avaliação Rápida De Rios (PAR'S). As minas usadas para realizar a análise microbiológica foram as que deram positivas para contaminação por *E. coli*, sendo elas a mina 16, 25, 27, 28 e 40. Para a realização das análises microbiológicas, foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP). Das 5 minas analisadas, apenas 2 estão fora dos padrões exigidos pelo CONAMA 357/2005. Nesse sentido, foi possível observar uma melhora na qualidade da água. A mata ciliar apresentou alterações em sua qualidade e a pluviosidade não influenciou na qualidade hídrica dos pontos de coleta no período analisado.

PALAVRAS-CHAVE: Água, PAR'S, Contaminação hídrica.

INTRODUÇÃO

De toda água que existe no planeta, 97% são salgadas (mares e oceanos), 2% formam as geleiras e apenas 1% é água doce e encontra-se em lençóis subterrâneos, rios e lagos, e estão distribuídos desigualmente pela Terra (MORAES e JORDÃO, 2002). Segundo Santin e Goellner (2013) a água é um recurso essencial à vida e finito e um componente bioquímico de todos os seres vivos, sendo o meio de vida de várias espécies e elemento representativo de valores culturais e sociais, além de ser importante fator de produção no desenvolvimento de

¹Acadêmica de Ciências Biológicas – Bacharelado – deborafiss@hotmail.com

²Biólogo. Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Docente e Orientador – thomas@fag.edu.br

diversas atividades econômicas.

O Brasil é o país mais rico em água potável, reunindo 18% do potencial de água de superfície do planeta e 8% das reservas mundiais (MAIA NETO, 1997). Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), toda a população tem como direito o acesso à água potável e segura, que não represente nenhum risco à saúde (SCURACCHIO; FARACHE FILHO, 2011).

O padrão de água potável no Brasil está descrito na Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde, e tem como quesitos: a ausência de substâncias venenosa ou tóxicas e a ausência de contaminação por agentes patogênicos; e também impõem limites quanto à presença de matéria orgânica em solução, entre outras exigências (BRASIL, 2004).

É de grande importância a análise microbiológica da água para fazer a verificação da qualidade higiênico-sanitária, por meio da pesquisa de indicadores de poluição fecal (BARROS *et al.*, 2001). Conforme Gruber e colaboradores (2014), os indicadores de contaminação fecal na água potável são os coliformes fecais e os termotolerantes, como *Escherichia coli* (*E. coli*).

Os coliformes termotolerantes são bactérias que fermentam lactose com produção de gás a $44,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ em 24 horas e o seu principal representante é a *E. coli* que é o indicador mais específico de contaminação fecal (CONTE *et al.*, 2004).

A *E. coli* está presente na microbiota normal do intestino humano e em outros animais, é um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo (MOURA *et al.*, 2012). Este micro-organismo é patogênico ao homem, podendo causar cólica, diarreia, febre, calafrios, mal-estar e em alguns casos pode causar diarreia com sangramento (BARBOSA *et al.*, 2009). É o agente etiológico mais frequente das infecções do trato urinário, e essas doenças acometem mais mulheres e crianças (ESPARIS *et al.*, 2006).

Uma outra forma de avaliar a atividade antrópica é a aplicação dos protocolos de avaliação rápida (PAR'S), que além de apresentarem uma importante ferramenta de monitoramento ambiental, tem uma metodologia simples e de rápida aplicação, permitindo realizar uma inspeção visual do ambiente e avaliação dos níveis de impactos em trechos de rios (VARGAS e FERREIRA JUNIOR, 2012).

Os ecossistemas aquáticos superficiais são contaminados principalmente pelos poluentes carreados pelo escoamento superficial, podendo ser depositados diretamente nas fontes de água para consumo, na forma solúvel ou particulada (AMARAL, 2003). A água de escoamento superficial, durante o período de chuva, é o fator que mais contribui para a mudança da qualidade microbiológica da água (GELDREICH, 1998).

Sendo assim, a verificação da qualidade da água faz-se necessária, pois se esta não estiver adequada para o consumo da população (sem tratamento), poderá causar problemas para seus usuários.

Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade da água das minas afluentes do Rio Cascavel, localizado em Cascavel – Paraná, utilizando um indicador microbiológico (*E. coli*) e comparar com os resultados obtidos em 2014 nos mesmo pontos, além de verificar a influência da pluviosidade e a integridade da mata ciliar para com a qualidade hídrica.

MATERIAS E MÉTODOS

DETERMINAÇÃO E COLETA DAS MINAS

Em uma pesquisa realizada por Conceição (2014), no Parque Ecológico Paulo Gorski em Cascavel – Paraná (figura 1), foi realizado um levantamento de três fragmentos: o fragmento 1 apresentava 43 minas, o fragmento 2 - 2 minas e o fragmento 3 - 6 minas, totalizando 51 minas. Para esse presente estudo só foram utilizadas as minas do fragmento 1 que deram positivas para contaminação por *E. coli*, sendo elas: mina 16, 25, 27, 28, 40. Em 2016 nos dias 10 e 17 de junho foi realizada uma nova coleta para realizar o monitoramento microbiológico e o PAR'S.

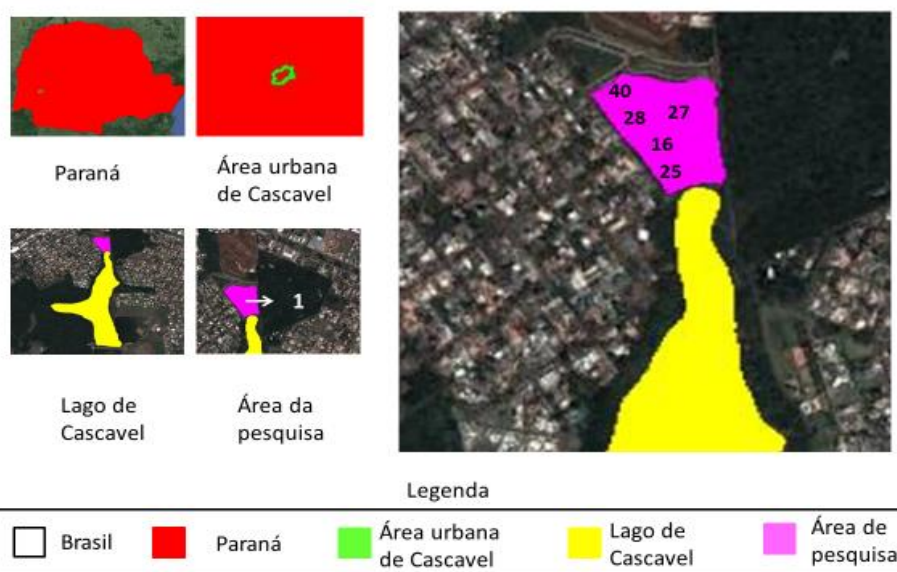


Figura 1 – Localização da área de pesquisa das minas afluentes do rio Cascavel – PR.
Fonte: Google Earth com alterações do autor.

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)

As técnicas laboratoriais utilizadas para realizar a análise da água estão descritas no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

As amostras foram coletadas em frascos estéreis, em seguida, os frascos foram levados e armazenados no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Assis Gurgacz. No laboratório, as amostras foram manuseadas por técnicas assépticas, iniciando com a homogeneização, seguida de diluições sendo: da primeira diluição 10^{-1} foi retirado 25 mL de água com o uso de pipeta e colocado no *erlenmeyer* com 225 mL de água peptonada; na segunda diluição 10^{-2} foi retirada 1 mL da primeira diluição e colocada para um tubo de ensaio com 9 mL de água peptonada, para fazer a terceira diluição 10^{-3} , foi retirado 1 mL de água da segunda diluição, o qual foi passado para um tubo de ensaio com 9 mL de água peptonada.

O método do Número Mais Provável foi realizado em duas partes: na primeira que é o teste presuntivo, a amostra foi realizada com o caldo lactosado ou o caldo Lauril Triptose (LST), para isso foi realizada uma triplicata dos tubos de ensaio, com um tubo de *duhran* invertido em cada tubo de ensaio. Em cada tubo foi colocado 9 mL de LST e 1 mL de suas respectivas diluições. Após a incubação de 1 mL por 48 horas em $\pm 35^{\circ}\text{C}$, para a leitura do teste presuntivo verifica-se a turbidez e a presença de gás, se o meio ficar turvo e ocorrer formação de gás no *duhran* o resultado é positivo para o grupo dos coliformes, se o meio não ficar turvo e não ocorrer a formação de gás no *duhran*, o resultado é negativo.

A segunda parte é o teste confirmatório, o qual é realizado com caldos seletivos para *E. coli* (EC). Em cada tubo de ensaio foram colocados 9 mL de EC e um tubo de *duhran* invertido em cada tubo. Foram inoculadas uma alíquota (alças de platina) do meio LST positivo nos tubos de EC, logo após os tubos foram colocados no banho-maria à 48°C por 24 ou até 48 horas. Para a leitura verifica-se a presença de gás e turbidez do meio, se ocorrer a turvação e a formação de gás no *duhran* o resultado é positivo para coliformes termotolerantes, se não ocorrer formação de gás nem a turbidez do meio, o resultado é negativo para coliformes termotolerantes.

Ainda para o teste confirmatório uma alíquota do LST positivo foi adicionada a um tubo de ensaio contendo 9 mL do meio Verde Brilhante (VB) e um tubo de *duhran* invertido em cada tubo de ensaio, depois são colocados na estufa à 37°C por 24 ou até 48 horas. Posteriormente foram retirados da estufa para realização da leitura, na qual se ocorrer a turvação e a formação de gás no *duhran* o resultado é positivo para coliformes totais, se não

ocorrer formação de gás nem a turbidez do meio, o resultado é negativo para coliformes totais.

Para cada tubo de EC que apresentar resultado positivo (presença de coliformes termotolerantes – *E. coli*), foi passada uma alça de platina e feito uma estria descontínua em uma placa de Petri com o meio de cultura ágar eosina azul de metileno (EMB), depois foram colocadas na estufa por 24 horas à 37°C. Se as placas apresentarem colônias pretas com brilho verde metálico ocorreu o crescimento das colônias características de *E. coli*.

DETERMINAÇÃO DA PLUVIOSIDADE

Os dados da pluviosidade foram coletados no site Águas Paraná – Instituto das Águas do Paraná (2016), para as variáveis em 24h (volume pluviométrico nos dias das coletas), em 48h (pluviosidade nas quarenta e oito horas anteriores ao dia de coleta), 1 semana (pluviosidade acumulada de 7 dias anteriores ao dia de coleta), e 1 mês (pluviosidade acumulada de 30 dias anteriores ao dia da coleta).

Para analisar se a pluviometria teve uma influência na qualidade hídrica das minas foi realizado um teste estatístico de correlação de Pearson, o qual verificou-se correlação nula.

PROTOCOLOS DE AVALIAÇÃO RÁPIDA DE RIOS (PAR'S)

Com o intuito de auxiliar no entendimento do que poderia estar ocasionando a contaminação das minas, foi realizado o PAR'S, que é composto por duas etapas, as quais avaliam o entorno dos rios por um sistema que apresenta 22 parâmetros, que são distribuídos em categorias descritivas e que são pontuadas, a primeira parte vai de 0 a 4 pontos e a segunda parte de 0 a 5.

A primeira parte é uma adaptação do protocolo da USEPA (1987), no qual avalia-se o nível dos impactos ambientais pelas atividades antrópicas, além de avaliar as características de trechos da drenagem, destacando e dando maior ponto à qualidade da água e aplicando peso menor à erosão e à cobertura vegetal das margens.

A segunda parte avalia toda a complexidade do habitat, se está ou não conservado, conferindo maior importância às características como: tipo de substrato e o fluxo d'água; e

conferindo menor pontuação à estabilidade das margens e à presença da mata ciliar e plantas aquáticas.

Na parte final do protocolo é realizado o somatório dos valores atribuídos a cada parâmetro, assim, as pontuações irão indicar o nível de preservação dos trechos analisados e como está a situação ambiental do lugar, como mostra na Tabela 1 (CALLISTO *et al.*, 2002).

Tabela 1 - Pontuação para cada situação ambiental do PAR'S proposto por Callisto *et al.*, 2002.

Pontuação	Situação Ambiental
61 – 100 pontos	Natural
41 – 61 pontos	Alterado
0 – 40 pontos	Impactado

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ausência de significância na correlação nos mostra que em 2014 e 2016 (figura 2) as chuvas no dia, 48 hrs, 1 semana e no mês que antecedem à coleta não tiveram influência na qualidade hídrica encontrada nos pontos analisados, sendo que a contaminação quando presente pode ter ocorrido por fatores não lixiviativos, aumentando a chance de poluição pontual.

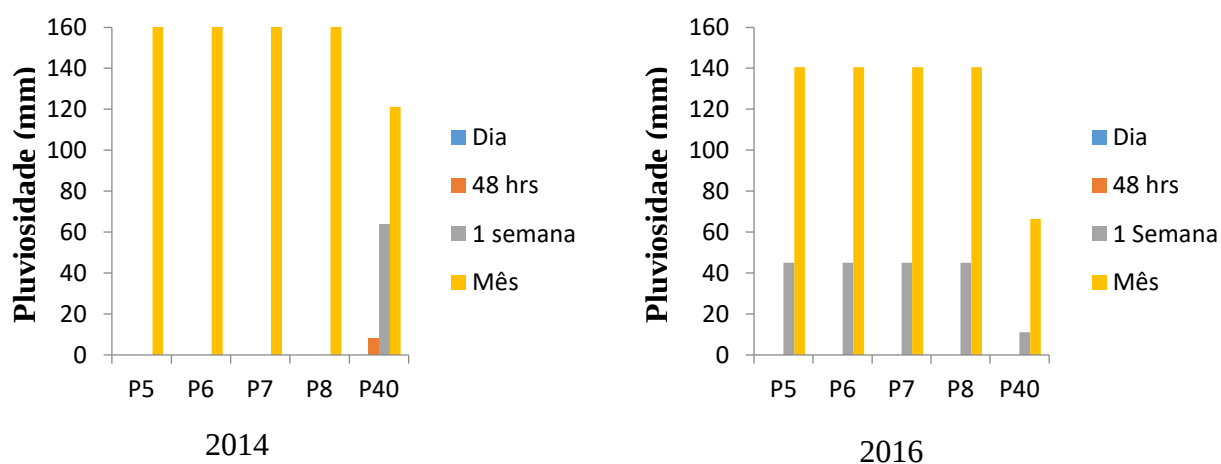


Figura 2 – Pluviosidade de 2014 e 2016.
Fonte: Águas Paraná (2016).

Os resultados microbiológicos das cinco amostras bases de 2014 e as amostras coletadas no ano de 2016 encontram-se apresentados na Tabela 2, onde apenas duas amostras

estão fora dos padrões legislativos, da mina 28 e 40, pois apresentam a contagem de NMP superior a $2,4 \times 10^2$ NMP/100 ml previstos pela legislação do CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005).

Tabela 2 – Resultado das análises microbiológicas pelo NMP de minas afluentes do rio Cascavel – PR no ano de 2014 e 2016.

Mina	Data	2014			Data	2016		
			Cto	Cte			Cto	Cte
16	27/07/2014	*	$>2,4 \times 10^6$	$>2,4 \times 10^6$	10/06/2016		< 3	< 3
25	27/07/2014	*	7×10^3	7×10^3	10/06/2016		< 3	< 3
27	27/07/2014	*	$4,6 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	10/06/2016		< 3	< 3
28	27/07/2014	*	$4,6 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	10/06/2016	*	4×10^3	4×10^3
40	17/08/2014	*	3×10^3	3×10^3	17/06/2016	*	$>2,4 \times 10^6$	$4,6 \times 10^5$

Legenda: (Cto) Coliformes Totais, (Cte) Coliformes Termotolerantes, (*) Minas que não estão dentro dos parâmetros da legislação do CONAMA 357/2005.

Os pontos 25 (figura 3) e 27 (figura 4) obtiveram uma melhora na qualidade da água com relação a 2014, pois em 2016 não apresentaram coliformes totais nem coliformes termotolerantes. Conforme os parâmetros de potabilidade segundo a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), onde consta que a água está potável só quando ocorre a ausência de *Escherichia coli* em 100 mL de amostra, a água das minas citadas anteriormente, encontram-se dentro da legislação. Essa melhora apresentada nas duas minas pode ser pelo processo de autodepuração, o qual segundo Sperling (1996) o fenômeno da autodepuração é o restabelecimento do equilíbrio no meio aquático, através de mecanismos naturais, após ocorrer alterações por despejos nos afluentes. Em um estudo realizado por Nagalli e Nemes (2009) em um córrego não nomeado, eles conseguiram evidenciar que o córrego teve a capacidade de autodepuração após a poluição através de despejos industriais e domésticos, o que corrobora com a inferência desta pesquisa.



Figura 2 – Afluente do Rio Cascavel - mina 25.



Figura 3 – Afluente do Rio Cascavel - mina 27.

As classificações da qualidade do ambiente ao entorno dos locais das coletas estão citadas na Tabela 3, sendo que no presente realizado em 2016 nenhum ambiente que rodeia as minas foi encontrado em seu estado natural.

Tabela 3 – Resultados de 2014 e 2016 do PAR’S.

Mina	2014	2016
	PAR’S	PAR’s
16	Natural	Alterado
25	Alterado	Alterado
27	Alterado	Alterado
28	Alterado	Impactado
40	Alterado	Alterado

Os pontos que apresentaram uma mudança no PAR’S de 2014 para 2016 foram as minas 16 (figura 5) e 28 (figura 6) como podemos observar na Tabela 3, onde o entorno da mina 16 em 2014 encontrava-se natural, já em 2016 o entorno encontra-se alterado. O entorno da mina 28 em 2014 apresentava-se alterado e em 2016 ocorreu um agravamento na situação da mata, resultando em um local impactado. Independentemente desses resultados, o ponto 16 apresentou uma melhora na qualidade microbiológica da água, não apresentando contaminação. Portanto o ponto 28 nas análises microbiológicas teve resultado positivo para coliformes totais e termotolarentes, porém, com relação a 2014, a quantidade de bactérias por ml apresentou um número menor em 2016, como pode-se observar na Tabela 2.

Uma possível explicação para a contaminação da mina 16 no ano de 2014 que se encontrava com seu entorno natural e para a mina 28 que continua contaminada (apresentou uma diminuição na quantidade de bactérias por ml) é de que a contaminação tenha ocorrido por poluição pontual. A poluição pontual é referente aos poluentes que são lançados em pontos específicos dos corpos d’água e de forma distinta, exemplos de fontes de poluição pontual são as indústrias, estações de tratamento de esgotos e as residências que estão perto dos corpos d’água (PEREIRA, 2004).



Figura 4 – Afluente do Rio Cascavel, mina 28.



Figura 5 – Afluente do Rio Cascavel - mina 16.

Com relação ao ponto 40 (figura 7), na análise do seu PAR'S, verificou-se que o seu entorno encontra-se alterado, igual ao resultado que Conceição (2014) obteve em sua pesquisa em 2014, a qual também averiguou que a contaminação poderia ser justificada pela quantidade de pessoas e animais que circulam no local e por áreas com pouca mata ciliar próximo à margem do rio. Sendo assim, a situação ambiental pode ter contribuído para a contaminação dessa mina, pois a mina está localizada próxima à rua, o entorno da mesma é de ocupações residenciais, e encontra-se com modificações presentes nas duas margens, como: presença de lixo, desflorestamento e erosão próxima e/ou nas margens do rio e leve assoreamento em seu leito.

Assim como Callisto *et al.* (2002), ao usar o PAR'S para analisar alguns rios do Parque Nacional da Serra do Cipó (MG) e no Parque Nacional da Bocaina (RJ), observou que os trechos que se encontravam impactados foram caracterizados por apresentarem um intenso



Figura 6 – Afluentes do Rio Cascavel, mina 40.
desflorestamento, erosão nas margens e consequentemente o assoreamento do leito do riacho.

CONCLUSÃO

Após a avaliação microbiológica realizada no ano de 2016, podemos notar uma melhora na qualidade da água, pois das 5 minas positivas de 2014, apenas duas tiveram resultado positivo em 2016. A mata ciliar apresentou alterações em sua qualidade apesar da pluviosidade não ter apresentado influências na qualidade hídrica dos pontos de coleta no período analisado.

REFERÊNCIAS

Águas Paraná – **Instituto das Águas do Paraná**. 2016. Disponível em: <<http://www.sihweb.aguasparana.pr.gov.br/sihweb/gerarRelatorioDiasChuva.do?action=arregarInterfaceInicial>> Acesso em: 28 agosto 2016.

AMARAL, L. A. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Rev. Saúde Pública**. v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.

APHA. *American Public Health Association. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater*, v. 21. 2005. Disponível em: <http://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_10900end.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2016.

BARBOSA, D. A.; LAGE, M. M.; BADARÓ, A. C. L.; Qualidade microbiológica da água dos bebedouros em um campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. **Nutrir Gerais**, v. 3, n. 5, p. 505-517, 2009.

BARROS, L. S. S.; AMARAL, L. A.; ROSSI, O. D. Aspectos microbiológicos e demanda de cloro de amostras de água de dessedentação de frangos de corte coletadas em bebedouros pendulares. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, n. 2, p. 193-198, 2001.

BRASIL. **PORTARIA MS Nº 2914/2011**, 2011. Disponível em: <bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 28 ago. 2016.

_____. **PORTARIA Nº 518/2004**, 2004. Disponível em: <bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/portaria_518_2004.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2016.

_____. **RESOLUÇÃO Nº 357 DE 17 DE MARÇO DE 2005**, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

CALLISTO, M.; FERREIRA, W. R.; MORENO, P.; GOULART, M.; PETRUCIO, M. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 34, n. 1, p. 91-98, 2002.

CONCEIÇÃO, K. **Análise de mananciais do rio cascavel localizado no município de Cascavel – Paraná**. 2014. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel.

CONTE, V.D.; COLOMBO, M.; ZANROSSO, A.V.; SALVADOR, M. Qualidade microbiológica de águas tratadas e não tratadas na região nordeste do Rio Grande do Sul. **Infarma**, v. 16, n. 11, p. 83-83, 2004.

ESPARIS, C. M.; TEIXEIRA, L. M.; IRINO, K.; GILL, P. F.; ALMEIDA, M. B.; LOPES, G. S.; et al. Aspectos biológicos e moleculares de amostras uropatogênicas de *Escherichia coli* isoladas na Cidade do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 6, p. 573-576, 2006.

GELDREICH, E. The Bacteriology of water. **Microbiology and microbial infections**. 1998.

GRUBER, J. S.; ERCUMEN, A.; COLFORD, J. M. Coliform bacteria as indicators of diarrheal risk in household drinking water: systematic review and meta analysis. **Plos One**, v. 9, n. 9, p. 1-14, 2014.

MAIA NETO, R. F. Água para o desenvolvimento sustentável. **A Água em Revista**, n. 9, p. 21-32, 1997.

MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370, 2002.

MOURA, M. R. A. L.; MELLO, M. J. G.; CALÁBRIA, W. B.; MAGGI, R. R. S.; CORREIA, J. B. Frequência de *Escherichia coli* e sua sensibilidade aos antimicrobianos em menores de cinco anos hospitalizados por diarreia aguda. **Revista Brasileira Saúde Materno Infantil**, v. 12, n. 2, p. 173-182, 2012.

NAGALLI, A.; NEMES, P.D. Estudo da qualidade de água de corpo receptor de efluentes líquidos industriais e domésticos. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 7, n. 2, p. 131-144, 2009.

PEREIRA, R. S. Identificação e caracterização das fontes de poluição em sistemas hídricos. **Revista Eletrônica de Recursos Hídricos**, v. 1, n. 1, p. 20-36, 2004.

PINTO, L. V. A.; ROMA, T. N.; BALIEIRO, K. R. C. Avaliação qualitativa da água de nascentes com diferentes usos do solo em seu entorno. **Cerne**, v. 18, n. 3, p. 495-505, 2012.

SANTIN, J. R.; GOELLNER, E. A gestão dos recursos hídricos e a cobrança pelo seu uso. **Seqüência**, n. 67, p. 199-221, 2013.

SCURACCHIO, P. A; FARACHE FILHO, A. Qualidade da água utilizada para consumo em escolas e creches no município de São Carlos- SP. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 22, n. 4, p. 641-647, 2011.

SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. v. 1, 2. ed. Belo Horizonte: DESA – UFMG, 1996.

USEPA. *United States Environmental Protection Agency*. **Surface water monitoring: A framework for change**. 1987. Disponível em:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_lKeP7PRtMsJ:nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi%3FDockey%3D9100LCIH.TXT+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 28 ago. 2016.

VARGAS, J. R. A.; FERREIRA JUNIOR, P. D. Aplicação de um Protocolo de Avaliação Rápida na Caracterização da Qualidade Ambiental de Duas Microbacias do Rio Guandu, Afonso Cláudio, ES. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 17, n. 1, p. 161-168, 2012.