

Situação: O preprint não foi submetido para publicação

## Eventos atrelados a Geosmina e 2-metilisoborneol (2-MIB) em Manancial de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: estudo de caso

Adriana Sotero-Martins, Elvira Carvajal, José Augusto Albuquerque dos Santos, Priscila Gonçalves Moura, Natasha Berendonk Handam, Nelson Peixoto Kotowski-Filho, Rodrigo Jardim

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.2091>

Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- O autor submissor declara que todos os autores responsáveis pela elaboração do manuscrito concordam com este depósito.
- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa estão descritas no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores estão incluídas no manuscrito.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que caso o manuscrito venha a ser postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo estará disponível sob licença [Creative Commons CC-BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.

Submetido em (AAAA-MM-DD): 2021-04-07

Postado em (AAAA-MM-DD): 2021-04-08

## Events linked to Geosmin and 2-methylisoborneol (2-MIB) in a Water Supply Source in the State of Rio de Janeiro, Brazil: a case study

## Eventos atrelados a Geosmina e 2-metilisoborneol (2-MIB) em Manancial de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: estudo de caso

Adriana Sotero-Martins<sup>\*1</sup>; Elvira Carvajal<sup>2</sup>; José Augusto Albuquerque dos Santos<sup>3</sup>; Priscila Gonçalves Moura<sup>4</sup>; Natasha Berendonk Handam<sup>5</sup>; Nelson Peixoto Kotowski-Filho<sup>6</sup>; Rodrigo Jardim<sup>7</sup>

1. Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental, Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ <https://orcid.org/0000-0002-4312-7699>

2. Laboratório BIOTECISA do DBC / IBRAG / UERJ <https://orcid.org/0000-0001-7368-515X>

3. Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ <https://orcid.org/0000-0003-0714-4608>

4. Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ <https://orcid.org/0000-0003-2553-1214>

5. Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ <https://orcid.org/0000-0001-9316-7966>

6. Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas do IOC / Fiocruz <https://orcid.org/0000-0001-5397-7980>

7. Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas do IOC / Fiocruz <https://orcid.org/0000-0002-0943-5356>

\***Autor para correspondência.** E-mail: [adrianasotero@ensp.fiocruz.br](mailto:adrianasotero@ensp.fiocruz.br)

### Destaques

- Banco de dados metagenômico resultante da crise hídrica de 2020 permitiu avaliar o evento geosmina/2-MIB na Bacia do Guandu.
- A identificação dos genes marcadores ligados a via bioquímica de produção desses compostos é uma ferramenta de diagnóstico da presença das cianobactérias produtoras
- Dados organolépticos obtidos por análises ou fornecidos pela população permitem a detecção precoce da presença desses compostos na água de consumo.
- Correlação entre o padrão organoléptico e a concentração dos compostos indicam que antes mesmo de serem detectadas bioquimicamente, o olfato e paladar humano detecta.
- Modificações no sistema de vigilância da qualidade da água de consumo precisam ser adotadas

## Resumo

Gostos e odores na água da torneira são problemas enfrentados por empresas produtoras de água em todo o mundo, com reclamações dos consumidores principalmente durante o verão, quando ocorrerem florações de cianobactérias produtoras dos compostos como geosmina e o 2-metilisoborneol (2-MIB). Foram analisados dados de intensidade do gosto e do odor, e concentração total das substâncias geosmina e 2-MIB, presente na água potável e na água bruta captada pela empresa de saneamento, que abastece a região metropolitana do estado do RJ/Brazil, durante crises hídricas do ano 2020, e no novo evento de 2021, a despeito dos alertas prévios feitos por especialistas. Foram realizadas análises estatísticas e de correlação dos dados públicos, e análise metagenômica da água bruta captada no manancial da Bacia do Guandu, no ano de 2020. Dados organolépticos permitiram sinalizar a presença desses compostos na água de consumo, os valores da intensidade do gosto estiveram maior número de vezes acima do VMP da legislação brasileira, sendo a média dos dados de 2020 de 37,5 e no ano seguinte esta média foi 5 vezes menor, indicando que as medidas para retirar dos compostos foram mais eficazes, mas não eliminaram o problema. Para o ano de 2020 houve correlação linear de 0,97 entre o padrão organoléptico gosto e a concentração total dos compostos. Os dados metagenômicos da água bruta do ano 2020, relacionados com os genes *mtf*, *mic* e *glys* indicaram que a substância responsável pelo gosto e odor foi o 2-MIB, visto o índice de *reads* para ele ter sido maior, tanto na primeira visita e único na segunda, quando ainda havia percepção de intensidade de gosto e odor. Modificações no sistema de vigilância da qualidade da água captada e de consumo precisam ser adotadas para contornar os problemas de proliferação de cianobactérias na bacia do Guandu, pois condições favoráveis às florações irão acontecer enquanto não forem resolvidos os problemas de saneamento dessa bacia hidrográfica.

**Palavras-chave:** Geosmina, 2-metilisoborneol, Cianobactérias, Metagenômica, Manancial, Saúde pública

## Abstract

Tastes and odors in tap water are problems faced by water companies all over the world, with complaints from consumers especially during the summer when cyanobacterial blooms occur that produce compounds such as geosmin and 2-methylisoborneol (2-MIB). We analyzed data on the intensity of taste and odor, and total concentration of the substances geosmin and 2-MIB, present in drinking water and raw water collected by the sanitation company that supplies the metropolitan region of the state of RJ/Brazil, during water crises in the year 2020, and in the new event of 2021, despite the previous warnings made by experts. Statistical and correlation analysis of the public data, and metagenomic analysis of the raw water captured from the Guandu basin in the year 2020 were performed. Organoleptic data allowed us to signal the presence of these compounds in drinking water, the values of the intensity of taste were more times

above the MPV of the Brazilian legislation, with the average of the data for 2020 being 37.5 and in the following year this average was 5 times lower, indicating that the measures to remove the compounds were more effective, but did not eliminate the problem. For the year 2020 there was a linear correlation of 0.97 between the taste organoleptic standard and the total concentration of the compounds. The metagenomic data of the raw water of the year 2020, related to the genes *mtf*, *mic* and *glys* indicated that the substance responsible for the taste and odor was 2-MIB, since the read rate for it was higher, both in the first visit and only in the second visit, when there was still perception of intensity of taste and odor. Modifications in the surveillance system of the quality of the water taken and consumed need to be adopted to circumvent the problems of cyanobacterial proliferation in the Guandu basin, since conditions favorable to blooms will occur as long as the sanitation problems in this watershed are not solved.

**Keywords:** Geosmin, 2-methylisoborneol, Cyanobacteria, Metagenomics, Fountain, Public Health

## 1. Introdução

A produção de metabólitos odíferos, como o 2-metilisoborneol (MIB) e geosmina, por cianobactérias, causando gostos e odores na água da torneira são os principais problemas enfrentados pelas concessionárias produtoras de água em todo o mundo, com o número de reclamações dos consumidores mais alto durante o verão (Kakimoto et. al., 2014), assim prejudicando o fornecimento seguro e adequado de água potável para a população (Giglio et al., 2013). A sensibilidade dos seres humanos ao odor desses compostos é muito alta (abaixo de 10 ng/L). Além disso, esses compostos são estáveis demais para serem metabolizados (Westerhoff et al., 2005). Embora o tratamento com carvão ativado remova esses compostos, essa abordagem é onerosa e ambientalmente insustentável para uso contínuo (Cook et al., 2001). Além disso, é difícil prever a quantidade desses compostos na água ano a ano, porque a intensidade do odor muda anualmente, mesmo que a condição da água permaneça semelhante. Portanto, prever a ocorrência de geosmina e 2-MIB na água da torneira para reduzir as reclamações dos consumidores, o custo dos tratamentos para redução dos compostos, e diminuição da insegurança hídrica se faz necessário (Kakimoto et. al., 2014).

Geosmina e 2-MIB são terpenos voláteis, sesquiterpeno e monoterpeno, respectivamente. A biossíntese de geosmina foi descrita em actinomicetos e cianobactérias, e o sesquiterpeno difosfato é convertido em geosmina pela geosmina sintase (Agger et al., 2008, Krishnani et al., 2008). Os genes codificadores da geosmin sintase foram identificados em vários organismos, como *Cyc2* em *Streptomyces coelicolor*; *GeoA* em *S. avermitilis*; NPUNMOD em *Nostoc punctuforme* (Jiang et al., 2007; Ludwig et al., 2007; Giglio et al., 2008). Muitas espécies de cianobactérias filamentosas foram confirmadas como produtoras de geosmina e 2-MIB, como: *Anabaena*, *Planktithrix*, *Pseudanabaena*

(*Planktonic*), *Phormidium*, *Oscillatoa* e *Lyngbya* (Izaguirre e Taylor, 1998; Izaguirre e Taylor, 2004; Acinas et al., 2009; Zahang et al., 2009).

A Estação de Tratamento de Água (ETA) do Guandu, localizada no Rio de Janeiro, pertence à companhia responsável por abastecer 16 cidades dependentes do Sistema Guandu, e uma população de 9 milhões de habitantes. Essa ETA capta água bruta da bacia hidrográfica completamente eutrofizada, pela carga de esgoto sem tratamento das cidades a montante (Sotero-Martins et al., 2020), portanto no verão com a elevada luminosidade e baixa movimentação das águas nas lagoas do ponto de captação de água bruta, favorece o crescimento dos microrganismos nessas lagoas (INEA, 2012). A legislação brasileira não determina os valores máximos permitidos (VMP) para geosmina e 2-MIB na água potável porém há limites padrão descritos para gosto e odor (Brasil, 2017).

A eutrofização e a poluição da água doce resultam em um aumento drástico na biomassa cianobacteriana que causa as florações (Lee et al., 2017). As florações têm um impacto econômico considerável com base na qualidade e segurança da água potável, na produtividade da aquicultura e nas atividades recreativas dos corpos d'água (Bruchet, 2019). As proliferações de cianobactérias são a principal causa para a deterioração da qualidade da água, causando hipóxia e anoxia de águas profundas, produção de toxinas, alterações na cadeia alimentar, morte de peixes e eventos de gosto e odor desagradáveis (Paerl et al., 2001).

Aumento da proliferação de cianobactérias e episódios cada vez mais frequentes associados com a ocorrência de geosmina e 2-MIB devido às atividades antropogênicas, bem como às mudanças climáticas, levou a preocupações globais com a qualidade da água potável. A crescente conscientização sobre o consumo seguro de água potável, aquicultura ou sistemas recreativos de água aumentou a demanda por um sistema de detecção e monitoramento rápido e robusto no local para eventos cianobacterianos geosmina e 2-MIB (Kakimoto et al., 2014; Zamyadi et al., 2018).

O objetivo deste trabalho foi analisar os dados sobre os parâmetros organolépticos, e de concentração de 2-MIB e Geosmina na água captada da Bacia do Guandu e da rede de distribuição de água tratada pela Estação de Tratamento de Água (ETA) do Guandu, Rio de Janeiro, durante as crises hídricas de 2020 e 2021. Dados metagenômicos da água bruta captada pela ETA, durante a crise hídrica de 2020 permitiram avaliar as espécies de cianobactéria potencialmente produtoras de geosmina e de 2-MIB na Bacia do Guandu. Com esses dados, tentou-se correlacionar a presença destes microrganismos e compostos com as concentrações analisadas pela empresa, sugerindo alterações no método de monitoramento da qualidade da água.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Local de amostragem da água bruta do manancial**

A água captada pela estação de tratamento (ETA) do Guandu (aproximadamente 45 m<sup>3</sup>/s) provem da lagoa de captação formada pelos rios Ipiranga, Queimados e Guandu, decorrência da transposição de água do Rio Paraíba do Sul ( Fig. 1 ), situada entre os municípios de Nova Iguaçu e Seropédica no Estado do Rio de Janeiro, Brazil (-22.80922:-43.62700). A lagoa cobre área de 350 km<sup>2</sup> (INEA, 2012). A água captada no manancial entra na ETA Guandu, e é tratada por duas estações: a velha estação de tratamento de água (VETA), em funcionamento desde 1955 e nova estação (NETA), inaugurada em 1982. Essa ETA é responsável por fornecer água potável para uma população de cerca de 9 milhões de habitantes da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro de 16 cidades, dependente do Sistema Guandu (IBGE, 2010). As atividades humanas têm mudado o regime original do lago nos últimos 50 anos. Os fatores mais relevantes são o aumento da população das cidades a montante, o aumento de indústrias e de atividades agrícolas ao longo dessa bacia hidrográfica, sem que tenha havido os investimentos necessários para o saneamento básico.

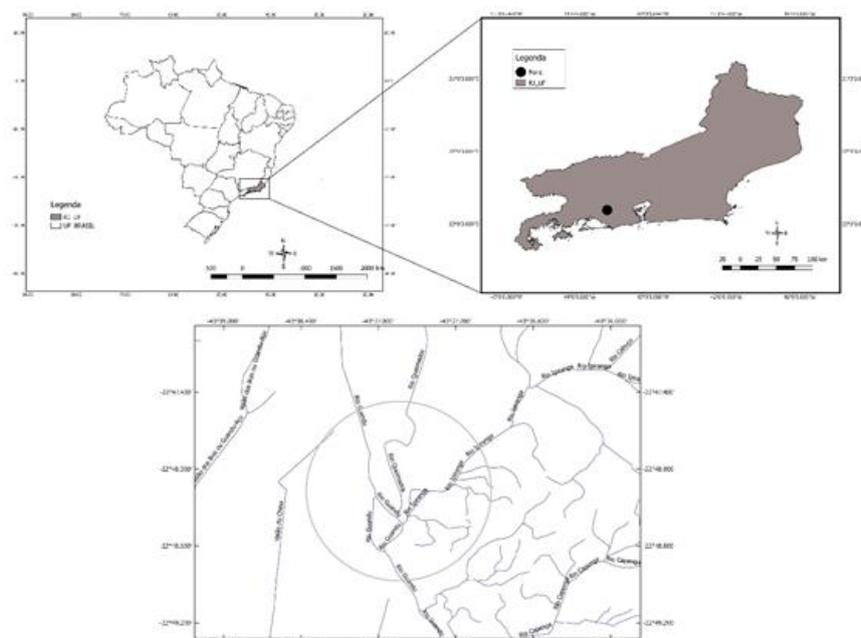


Figure 1. Mapa da Lagoa de Captação da ETA Guandu. Fonte: Autores

## 2.2.Coleta e processamento de amostra no ano de 2020

Amostras de água bruta do manancial da Bacia do Guandu foram coletadas durante a crise do ano de 2020, em dois momentos. A primeira visita foi em 13/01/2020, momento com grande reclamação da população devido gosto e odor da água de consumo. Nessa primeira coleta foi obtido um volume de apenas 700 mL do manancial, por isso um material raro. Esse volume passou por ultracentrifugação (120,000 xg) por 2 horas a 4°C. O DNA do sedimento foi extraído pelo kit DNEasy da Quiagen. A segunda coleta de água do manancial, foi em 09/03/2020, momento com menos queixas sobre o gosto e odor. Foram

coletados 10 litros de água bruta, que foram filtrados em membranas de nitrocelulose de 0,8  $\mu\text{m}$ ; 0,45  $\mu\text{m}$  e 0,22  $\mu\text{m}$  de porosidade. A extração de DNA dessas coletas foi realizada com o kit "PowerWater® Sterivex™ DNA Isolation Kit Sample" (MO bio laboratories, Inc). A construção das bibliotecas foi realizada com o kit Nextera DNA FLEX 2x150 bp paired-end da Illumina.. O DNA foi quantificado no Qubit™ DNA HS e os tamanhos das amostras foram analisados com DNA Sensitivity bioanalyzer, antes do sequenciamento. O sequenciamento foi realizado no SENAI CETIQT Innovation Institute for Biosynthetic and Fibers sequencing facility (2020) usando NextSeq 550 da Illumina (Illumina, INC, EUA).

## **2.2. Obtenção de dados secundários de 2020 e 2021**

Os dados secundários para as análises dos parâmetros organolépticos, de gosto e odor, foram obtidos de relatórios públicos disponibilizados pela empresa responsável pelo tratamento da água, divulgados na página eletrônica, em <https://www.cedae.com.br/relatoriosguandu>, para os anos de 2020 e 2021 (CEDAE, 2020-2021), produzidos por empresa terceirizada contratada pela CEDAE. Foram analisados os dados secundários de três relatórios. Foi feito um recorte de tempo dos períodos de reclamação sobre a qualidade da água, com relatos de gosto e odor na água consumida pela população, a saber: 1) resultados de gosto e odor da rede de distribuição; 2) resultados de gosto e odor das saídas de tratamento da VETA e da NETA ; 3) resultados de geosmina e 2-MIB, em concentração total ( $\mu\text{g/L}$ ), média dos dois compostos juntos no ponto de captação da ETA Guandu e média da concentração total na saída do tratamento. Para 2021, como não foi produzido o valor médio, optou-se por considerar os dados descritos para VETA.

## **2.3. Procedimento analítico dos dados metagenômicos**

Os dados sequenciados foram analisados na plataforma Stingray@Galaxy (Wagner et al. 2014). A qualidade das amostras sequenciadas foi avaliada pelo FastQC 0.67 (Blankenberg et al., 2010). Para a limpeza dos dados usou-se o Trimmomatic com cut-off acima de 38 e comprimento mínimo de 20. Foi avaliado a presença dos perfis gerados relacionados as sequências de 2-MIB e geosmina. Para a montagem dos perfis, as sequências de proteínas que possuíam anotações funcionais para 2-MIB e geosmina, foram obtidas das bases de dados RefSeq, UniProtKB e Genbank do Nacional Center for Biotechnology Information (NCBI) versão 3.5.0. As sequências foram validadas e os domínios conservados em cianobactérias foram avaliados no NCBI CD-Search. Os dados foram processados e analisados no Stingray@Galaxy (Wagner et al., 2014). O FAST STASTIC versão 1.0.0 foi utilizado para a verificação da estatística. O valor da mediana de cada arquivo foi considerado para filtragem das sequências pelo Filter sequences by length. As sequências de 2-MIB e geosmina foram submetidas ao alinhamento múltiplo pelo programa MAFFT versão 7.221.3 (Kato et al., 2002). Sendo gerados perfis e buscas de similaridade no programa HMMER versão 0.1.

## 2.4. Procedimento analítico dos dados secundários

Todos os cálculos matemáticos e estatísticos foram feitos no Excel 2003 (Microsoft Office®) e no BIOESTAT 5.3 (Instituto Mamirauá). Na determinação do período das datas de recorte dos dados secundários obtidos nos relatórios da CEDAE, foram considerados o início das reclamações de gosto e odor na água, pela população dos municípios abastecidos pelo manancial, sendo considerado até 45 dias após essa data, tempo em que foram adotadas medidas corretivas e essas poderiam estar fazendo efeito. Desta forma, para o ano de 2020, a data de início foi o dia 04/01/2020, e para o ano de 2021, foi o dia 19/01/2021. Foram utilizados os valores máximos encontrados para a intensidade dos parâmetros gosto e odor dos pontos de coleta no mesmo dia e quantos locais com coletas de amostras na rede de distribuição. Foi realizada análise estatística por Teste de Correlação Linear (Pearson) entre dados de a intensidade de gosto e odor e a concentração total das substâncias 2-MIB e geosmina, considerando somente as datas que tiveram os parâmetros organolépticos igual ou superior a 6 (VMP descrito na legislação brasileira) e quando foram realizados ambos os parâmetros na data considerada.

## 3. Resultados

### 3.1- Dados da intensidade dos parâmetros “Gosto e Odor” na rede de distribuição

Em janeiro de 2020, as cianobactérias do gênero *Planktothricoides* foram descritas como as mais abundantes e responsáveis pela produção de substâncias que provocavam alterações no padrão organoléptico da água produzida na ETA Guandu (Sotero-Martins et al., 2020). Para o mesmo ano, foram apresentados resultados das análises de intensidade de gosto e odor, de pontos da “Rede de Distribuição”, nos 45 dias após início de reclamação pela população. Contudo, a empresa somente iniciou as análises no dia 13/02/2020, por isso o recorte da análise dos dados foi até o dia 17/02/2020. Desta forma, na crise hídrica enfrentada no ano de 2020, a população reclamava sobre a qualidade da água fornecida pela empresa, e somente foi iniciada a avaliação dos parâmetros “gosto e odor”, 40 dias após o início das reclamações. Dentro do período da crise, após 20 dias de reclamação da população, foi iniciado o uso de carvão ativo e argila ionicamente modificada na etapa de tratamento da água na ETA Guandu (Fig. 2-A).

Em janeiro do ano de 2021, no período de verão, com as condições semelhantes de floração de cianobactérias e devido à continuidade das baixas condições de saneamento das cidades à montante da ETA Guandu, a água fornecida para a população dessa bacia hidrográfica, voltou a apresentar situação de não conformidade com a legislação brasileira. Durante 9 dias distintos, porém próximos, a intensidade do parâmetro “gosto” na rede de distribuição esteve acima do valor máximo permitido admitido na legislação

brasileira (Fig. 2-B). Embora somente nesses dias o parâmetro “gosto” tenha sido igual ou superior a intensidade 6, foram relatados pela imprensa reclamações da população de diferentes locais, sobre o gosto e odor na água distribuída, gerando desconfiança sobre a qualidade da água fornecida. Este fato levou a um aumento do consumo de água mineral pela população de maior renda, contudo a população de baixa renda teve como única alternativa a diminuição da ingestão de água nos dias de “não conformidade” com a legislação brasileira (Brasil, 2017), aumentando os riscos em saúde pública nos grupos vulneráveis.

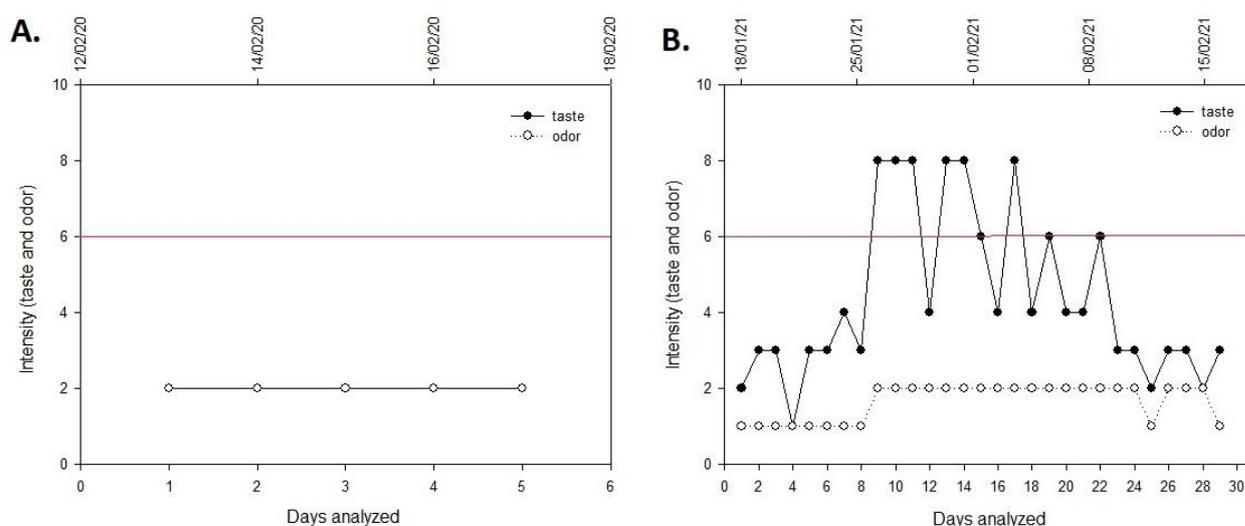


Figura 2 – Dados da intensidade máxima encontrada para os parâmetros “Gosto e Odor” na Rede de Distribuição, em A. para os 5 dias na crise de 2020; B. para os 29 dias na crise de 2021, analisados e apresentados nas tabelas disponibilizadas *on line*. A linha vermelha representa o valor máximo permitido descrito na legislação brasileira.

Em média, no ano de 2020, foram feitas coletas em 13 pontos de avaliação na rede de distribuição ( $DP = 10,3954$ ), dentro do período de recorte do estudo, caracterizada como crise hídrica. Porém houveram dias em que foram realizados 37 coletas e dias em que não houve coleta, ou apenas duas coletas representando o dia de monitoramento, e a mediana foi de 9 pontos de coleta. No ano de 2021, em média foram 8,3 pontos de avaliação ( $DP = 5,9721$ ), porém também como em 2020, não houve um padrão de acompanhamento, houve dias com 24 coletas, e dias sem coletas ou com um único ponto, e nem sempre foram considerados os mesmos pontos.

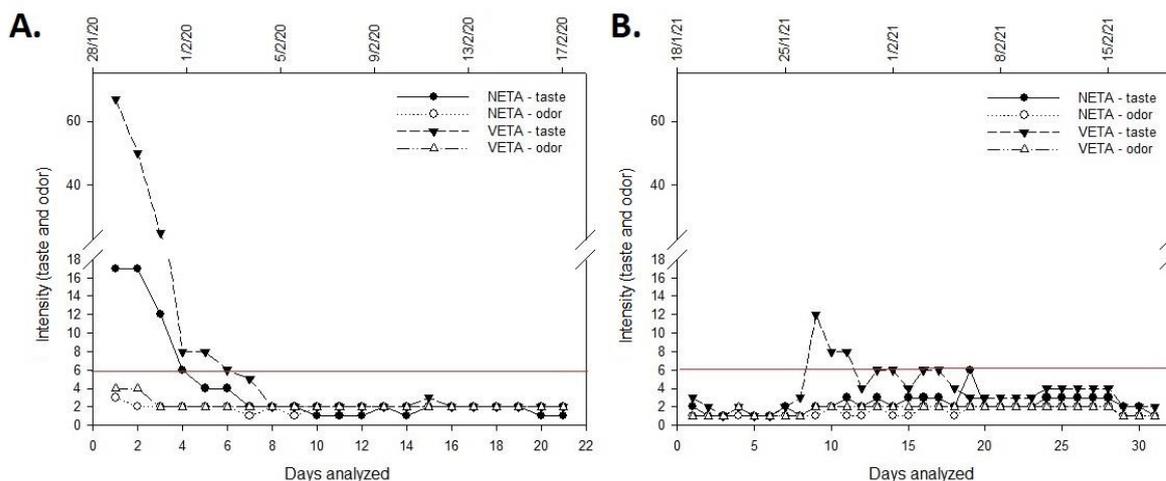


Figure 3- Monitoramento gosto e odor na saída do tratamento ano, comparação entre NETA e VETA. A linha vermelha representa o valor máximo permitido descrito na legislação brasileira.

No ano de 2020, após 24 dias de enfrentamento da situação de fornecimento de água de consumo com gosto e odor, a intensidade do padrão organoléptico gosto, tanto na saída da VETA como da NETA, esteve muito acima do VMP descrito na portaria de potabilidade (Brasil, 2017). No ano de 2021, apenas após 7 dias de reclamação da situação de fornecimento com gosto e odor, as análises da empresa contratada foram realizadas e apresentaram valores acima do VMP (Fig 3). Contudo, na comparação dos dados provenientes da saída NETA, com os da saída da VETA, a água produzida na VETA apresentou na maioria das vezes intensidade dos parâmetros com valores maiores, em 2020 a amplitude dos dados para VETA e NETA foi de 67 e 17, respectivamente. E no ano de 2021, a amplitude dos dados para VETA e NETA foi de 11 e 5, respectivamente. Embora ambas as estações de tratamento captem água bruta do mesmo manancial.

### 3.2- Dados sobre as substâncias Geosmina e MIB

A tabela com os dados das análises pela empresa terceirizada pela CEDAE não discriminava os valores individuais para cada uma, sendo apresentada somente a concentração total. Desta forma, ao avaliar a concentração total das substâncias 2-MIB + Geosmina no ponto de captação da água bruta do manancial da Bacia do Guandu, assim como na saída do tratamento, observa-se que o ano de 2020 foi o ano com as concentrações mais elevadas. Contudo essas concentrações podem ter atingido concentrações ainda mais elevadas, visto que as análises começaram a ser feitas em 2020 somente 23 dias após reclamações da população, quando foi iniciado o uso do carvão ativado dentro do tanque de entrada de água bruta na ETA Guandu, e argila ionicamente modificada no manancial, o que começou a produzir os efeitos

esperados, com a redução desses compostos. Sendo assim, nos 20 dias seguintes, a concentração total dessas substâncias foram diminuindo tanto no ponto de captação da água bruta, como na saída do tratamento (Fig. 4-A). Embora na legislação de potabilidade (Brasil, 2017) não existam valores de referência para essas substâncias [Geosmina e 2-Metilisoborneol (MIB)], pode-se sugerir que sejam as responsáveis pelo parâmetro gosto e odor descrito na legislação brasileira. Sendo assim, a equivalência e a correlação entre esses parâmetros são fundamentais para apoiar o monitoramento, visto que o descrito na legislação é qualitativo. Para o ano de 2021, mesmo sendo utilizado carvão ativado no tratamento da água, assim como o uso de argila ionicamente modificada no manancial, as concentrações totais desses compostos somente foram detectadas 6 dias após a reclamação, portanto a população já percebia alterações no gosto e odor, mesmo com valores abaixo de  $0,01 \mu\text{g/L}$ . E (Fig. 4 - B).

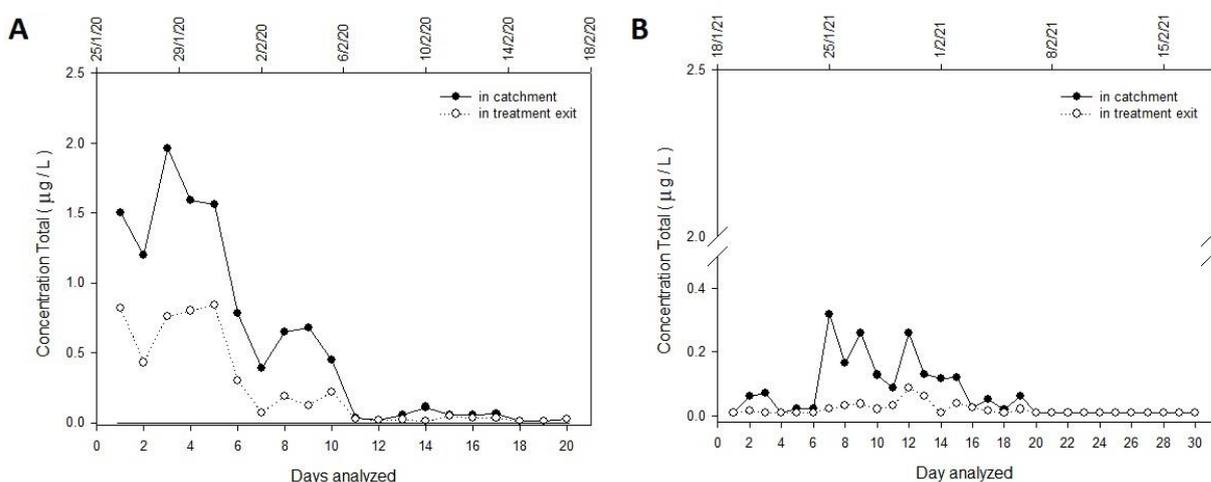


Figura 4 – Monitoramento da concentração total de 2-MIB e Geosmin, no Sistema Guandu, dentro do período analisado para os 20 dias de crise hídrica no ano de 2020 (A.) e 30 dias no ano de 2021 (B.); nos pontos de captação de água bruta e de saída do tratamento.

### 3.4- Correlação entre a concentração total de 2-MIB e geosmina e a intensidade dos parâmetros organoléticos

Somente foi possível aplicar a correlação estatística de Pearson ( $r$ ) entre os dados da intensidade de gosto e odor e a concentração total das substâncias 2-MIB e geosmina no ano de 2020, pois embora tenham sido 4 dias (29/01; 30/01; 31/01 e 01/02/2020) houve variação nos valores do parâmetro odor. Para o ano de 2021 foram 8 dias (27/01; 28/01; 29/01; 31/01; 01/02; 02/02; 04/02; 06/02) com dados correspondentes. O parâmetro odor não variou, ficou sempre com intensidade 2, portanto somente foi aplicado a correlação de Pearson entre a intensidade de gosto e a concentração total das substâncias 2-MIB e geosmina. Para os dados dos 4 dias de crise hídrica do ano de 2020 com dados

acima do VMP descrito na legislação brasileira, a média desses dias foi de 37,5 para a intensidade gosto (DP = 26,16) e de 3 para odor (DP = 1,15), e a média da concentração total de 2-MIB e geosmina foi de 0,503 µg/L (DP = 0,38). O coeficiente de correlação linear ( $r$ ) entre a intensidade de gosto e a concentração total das substâncias 2-MIB e geosmina foi de 0,95 e entre a intensidade de odor e a concentração total das substâncias 2-MIB e geosmina foi de 0,97. Portanto, esses valores indicam que há uma forte relação linear entre as variáveis. Porém para o ano de 2021, os valores médios dos 8 dias de crise hídrica do ano de 2021, com dados acima do VMP descrito na legislação brasileira, foram 5 vezes mais baixos do que os observados em 2020, sendo a média para a intensidade gosto de 7,5 (DP = 0,92), a de odor permanecendo constante em 2 e a média da concentração total de 2-MIB e geosmina foi de 0,023 µg/L (DP = 0,02). A análise de correlação linear entre a intensidade de gosto e a concentração total de 2-MIB e geosmina forneceu um valor de  $r = -0,012$ , ou seja, praticamente não existe uma relação linear entre as variáveis.

### 3.5 – Dados sobre o número de *reads* encontrados nas amostras de 2020

O índice produzido a partir do número de *reads* para os genes indicativos das vias metabólicas da produção de 2-MIB e de geosmina, dividido pelo número total de *reads* na amostra de água bruta, coletada em plena crise de janeiro de 2020 foi 6,42 vezes maior na primeira coleta (dia 13/01/2020) do que na segunda coleta (09/03/2020) para o gene da geosmina sintase (GSG), relacionados com a geosmina. Para o gene indicativo de 2-MIB, da metil transferase (*mtf*, também conhecido por *mib*) e da 2-MIB ciclase gene (*mic*), para 2-MIB, na segunda coleta não foi detectado, mas na primeira foi de  $4,88 \times 10^{-7}$ , superior ao de geosmina, que foi de  $1,22 \times 10^{-7}$ .

Nas amostras de água tratada, coletadas para serem representativas de água da rede de distribuição, não foram encontradas sequências representativas dos genes indicativos de 2-MIB e de geosmina.

Na busca comparativa com as sequências nos bancos de dados RefSeq e UniProtKB do NCBI foram encontradas 129 sequências para os genes marcadores da via bioquímica de 2-Methylisoborneol (2-MIB), que são a difosfato de geranyl 2-metiltransferase (GPPMT) e da MIB sintase (MIBS). E para o gene marcador da síntese de geosmina foram encontradas 1529 sequências para o gene marcador Gys.

## 4. Discussão

Nas últimas três décadas, há um aumento gradual nos relatos de geosmina e 2-MIB na água potável e a maioria deles tem sido associada com a proliferação de cianobactérias (John et al., 2018). E devido ao desagradável gosto e odor de terra e lama, desfaz a confiança do consumidor na segurança da água tratada (Te et al., 2017). O que pode ser considerado um problema de saúde pública pois a baixa ingestão pode comprometer a homeostase do organismo humano, o balanço hídrico, baixa de imunidade e que os demais efeitos deletérios da desidratação (Azevedo et al., 2016; Barry et al., 2010).

Tanto a geosmina quanto o 2-MIB têm valor de limite de odor muito baixo (<10 ng / L) e é difícil de remover de forma eficaz usando processos convencionais de tratamento de água (Lu et al., 2019; Tsao et al., 2014). Além disso, a falta de qualquer padrão claro entre a produção de geosmina / 2-MIB e fatores endógenos associados com cianobactérias, bem como fatores ambientais exógenos (luz, temperatura, fornecimento de nutrientes e oxigênio dissolvido), torna um desafio monitorar e prever eventos de gosto e odor de forma eficaz (Watson et al., 2016).

Entre os vários odorantes identificados, geosmina e 2-metilisoborneol (2-MIB), responsáveis pelo odor de mofo ou terra, são considerados os mais comumente envolvidos em eventos de alteração na qualidade da água potável (Bruchet, 2019; Lee et al., 2017; Watson et al., 2016). Outros compostos orgânicos voláteis produzidos por cianobactérias, como compostos de enxofre, derivados de carotenóides, derivados de ácidos graxos, amins e terpenóides, também estão associados a problemas de sabor e odor desagradáveis na água (Bruchet, 2019). Estes compostos, apesar de não representarem risco à saúde humana, provocam insegurança e falta de confiança da população, levando a reclamações sobre a qualidade da água. Além disso, causam problemas econômicos como ao turismo e na comercialização de produtos da aquicultura (Tucker, 2000). Muitas cianobactérias produzem neurotoxinas potentes (anatoxinas e saxitoxinas) e hepatotoxinas (microcistinas, cilindrospermopsinas e nodularina) que representam riscos graves à saúde (Chiu et al., 2017, 2016; Lee et al., 2017). Embora estas toxinas possam estar presentes ao mesmo tempo que os compostos de gosto e odor, não foi encontrada nenhuma correlação entre estes compostos na literatura que possa justificar a utilização dos compostos de gosto e odor como indicadores da presença de toxinas (Chorus and Welker, 2021).

Ao longo dos anos, vários casos envolvendo os 2-MIB e geosmina foram relatados na América do Norte, Austrália, Europa, China, Japão, Taiwan, Filipinas e África do Sul, países estão no mapa de referência para ocorrência de compostos com gosto e odor (Su et al., 2015). Contudo, no Brasil não há VMP para esses compostos, de acordo com a legislação brasileira - Portaria de Consolidação no. 5/2017, anexo XX (Brasil, 2017), portanto poucos trabalhos relacionados.

Além da geosmina, o 2-MIB é também um importante terpenóide responsável pelo problema de alteração das propriedades organolépticas na água potável, mesmo em baixas concentrações (Watson et al., 2016). Chiu et al. (2016) relataram que mais de 40 espécies de cianobactérias, incluindo os gêneros de *Pseudoanabaena*, *Planktothrix*, *Planktothricoides*, *Phormidium*, *Oscillatoria* e *Lyngbya* foram relatados como produtores de 2-MIB.

Em trabalho anterior do nosso grupo, foi relatado que o gênero mais abundante nas amostras de água bruta analisadas por metagenômica foi

Planktothricoides e as sequências para a espécie mais abundantes foi a SR001 de Planktothricoides sp do NCBI (Moura et al., 2020). E o trabalho de Te et al (2017) através de ensaio imunoenzimático (ELISA), relataram que o gênero *Planktothricoides sp*, produzindo apenas 2-MIB, sendo negativos para geosmina, microcistinas e cilindrospermopsina.

Nesse estudo foram comparadas as sequências, identificadas por metagenômica, com as 129 sequencias dos genes marcadores para a via bioquímica de 2-MIB, e para as 1529 sequências do gene marcador da síntese de geosmina. O conhecimento sobre a síntese de 2-MIB em cianobactérias permite o desenvolvimento de ferramentas moleculares para monitorar a produção de compostos de gosto e odor relacionados com a expressão dos genes de síntese correspondentes (Chiu et al., 2016 ; Wang et al., 2016 ).

Chiu et al. (2016) e Koltsidou (2019) sugerem que taxa de produção de geosmina pode estar relacionada com o número de cópias de genes e a fase de crescimento dos organismos produtores. Su et al. (2013) obtiveram uma quantificação do gene da geosmina sintase (GSG) de *Anabaena* em amostras de diferentes fontes de água em Pequim, China, utilizando técnica de qPCR, e mostraram que correlação significativa com concentrações de geosmina de amostras de água medidas usando análise de cromatografia gasosa e de espectrometria de massa (GC-MS). Os resultados desse estudo corroboram com esse estudo, pois foi demonstrada uma correlação significativa entre a intensidade de gosto e odor com a média de concentração total de 2-MIB e geosmina. O trabalho de Su et al. (2013), assim como no de Moore (2019), esteve focado na possível expressão do gene da geosmina sintase, e nos envolvidos com a produção de 2-MIB. No trabalho de Moore (2019) eles desenvolveram um protocolo qPCR focado no estudo da expressão do gene de geosmina sintase em várias condições ambientais, ao invés de avaliar a produção de odores dessas cianobactérias.

A maioria dos estudos atuais sobre detecção de geosmina e 2-MIB envolvem técnicas de biologia molecular, sendo as mais rápidas as de qPCR. Conhecer a ocorrência de sequências-alvo de *primers* e de sondas possíveis de identificação e detecção de cianobactérias envolvidos com eventos de produção de geosmina / 2-MIB, e de cianotoxinas oferece vantagens de detecção dos organismos fontes, mesmo em concentrações muito baixas, com a distinção das cianobactérias produtoras de odor das não produtoras, e avaliação do potencial de produção de odor das cianobactérias de forma mais rápidas em comparação com as técnicas convencionais, a metagenômica permite o comparar e explorar sequencias diretas dos organismos [Nazir, 2016), sendo possível explorar e melhorar a caracterização e detecção de vários grupos de contaminantes da água, além de analisar um conjunto de genes metabólicos de comunidades microbianas, permitindo determinar as condições ambientais, tais como poluição, e a diversidade de genes [Singh et al., 2009; Bower et al., 2005].

## 5. Conclusões

As análises dos dados disponibilizados pela empresa de tratamento apontam a necessidade de um plano de segurança da água (PSA) e uma padronização

de pontos na rede de distribuição que possam ser representativos para sinalizar o que está acontecendo na rede. A falta de padronização na periodicidade das coletas e na quantidade de pontos amostrais, indicam uma fragilidade no sistema de monitoramento.

Tendo em vista a correlação fortemente positiva entre a intensidade dos parâmetros organolépticos, com a concentração média de 2-MIB e geosmina, detectada por métodos químicos, presente tanto na rede de distribuição, assim como na saída de tratamento, pode-se utilizar a intensidade dos parâmetros organolépticos como indicadores desses compostos de gosto e odor.

E esses compostos podem ser monitorados por métodos de biologia molecular, perseguindo os genes relacionados com as vias bioquímicas relacionadas com esses compostos, sendo possível a detecção precoce da presença a água.

## **AGRADECIMENTOS**

À Vice-Presidência de Ambiente, Atenção e Promoção da Saúde (VPAAPS) da Fiocruz pelo financiamento, ao Programa de Pós Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente da FIOCRUZ/ENSP, e apoio do Ministério Público do Estado do Rio de Janeiro, através do GAEMA pela oportunidade no desenvolvimento desse trabalho.

## **Conflitos de interesse**

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## **Referências**

1. Kakimoto M., Toshiki Ishikawa, Atsuko Miyagi, Kazuaki Saito, Motonobu Miyazaki, Takashi Asaeda, Masatoshi Yamaguchi, Hirofumi Uchimiya, Maki Kawai-Yamada. Culture temperature affects gene expression and metabolic pathways in the 2-methylisoborneol-producing cyanobacterium *Pseudanabaena galeata*. *Journal of Plant Physiology*, v.171, Issues 3–4, 2014, Pp 292-300,. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.005>.
2. Giglio S., Chou W.K.W. , Ikeda H. , Cane D.E. , Monis P.T. Biosynthesis of 2-Methylisoborneol in cyanobacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 45 (2011), pp. 992-998.

3. Westerhoff P., M. Rodriguez-Hernandez, L. Baker, M. Sommerfeld. Seasonal occurrence and degradation of 2-methylisoborneol in water supply reservoirs. *Water Res*, 39 (2005), pp. 4899-4912.
4. Cook D., G. Newcombe, P. Sztajn bok. The application of powdered activated carbon for MIB and geosmin removal: predicting PAC doses in four raw Waters. *Water Res*, 35 (2001), pp. 132513-132533.
5. Agger AS, Lopez-Gallego F., Hoye TR., Schmidt-Dannert C. Identification of sesquiterpene synthases from *Nostoc punctiforme* PCC73102 and *Nostoc* sp. strain PCC7120. *J Bacteriol* 2008; 190:6084-6096. DOI: 10.1128/JB.00759-08.
6. Krishnani K.K. , P. Ravichandran, S. Ayyappan. Microbially derived off-flavor from geosmin and 2-methylisoborneol: sources and remediation. *Rev Environ Contam Toxicol*, 194 (2008), pp. 1-27.
7. Jiang J. , X. He, D.E. Cane. Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nat Chem Biol*, 3 (2007), pp. 711-715,
8. Ludwig F. , A. Medger, H. Börnick, M. Opitz, K. Lang, M. Göttfert, I. Röske. Identification and expression analysis of putative sesquiterpene synthase genes in *Phormidium* sp. and prevalence of *geoA*-like genes in a drinking water reservoir. *Appl Environ Microbiol*, 73 (2007), pp. 6988-6993.
9. Giglio S. , J. Jiang, C.P. Saint, D.E. Cane, P.T. Monis. Isolation and characterization of the gene associated with geosmin production in cyanobacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 42 (2008), pp. 8027-8032, 10.1021/es801465w.
10. Izaguirre G. , Taylor W.D. . A *Pseudanabaena* species from Castaic Lake, California that produces 2-methylisoborneol. *Water Res*, 32 (1998), pp. 1673-1677.
11. Izaguirre G. , Taylor W.D. A guide to geosmin- and MIB-producing cyanobacteria in the United States. *Water Sci Technol*, 49 (2004), pp. 19-24.
12. Acinas S, Haverkamp T, Huisman J et al. Phenotypic and genetic diversification of *Pseudanabaena* spp. (cyanobacteria). *ISME J* 2009;3:31–46. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.78>
13. Zahang T., L. Li, L. Song, W. Chen. Effects of temperature and light on the growth and geosmin production of *Lyngbya kuetzingii* (Cyanophyta). *J Appl Phycol*, 21 (2009), pp. 279-285.
14. Sotero-Martins A., Aloysio da Silva Ferrão-Filho, José Augusto Albuquerque dos Santos, Priscila Gonçalves Moura, Natasha Berendonk Handam, Nelson Peixoto Kotowski-Filho, Rodrigo Jardim, Elvira Carvajal. Characterization of Periods of Crisis and Post-Crisis in the Raw Water of

Guandu System through Quality Parameters. 2020. DOI: 10.1590/SciELOPreprints.571.

15. INEA - R585 Comitê da Bacia Hidrográfica Guandu (RJ). Bacia Hidrográfica dos Rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim/Comitê da Bacia Hidrográfica Guandu/ organizado por Décio Tubbs Filho, Julio Cesar Oliveira Antunes, Janaina Silva Vettorazzi. --- Rio de Janeiro: INEA, 2012. 340 p. : il. Acesso em 22/02/2021 em [http://www.inea.rj.gov.br/wp-content/uploads/2019/01/Livro\\_Bacia-Hidrogr%C3%A1fica-dos-Rios-Guandu-da-Guarda-e-Guandu-Mirim.pdf](http://www.inea.rj.gov.br/wp-content/uploads/2019/01/Livro_Bacia-Hidrogr%C3%A1fica-dos-Rios-Guandu-da-Guarda-e-Guandu-Mirim.pdf)

16. Brasil. Portaria de Consolidação no 5 de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Publicada No. 190 –DOU de 03/10/2017 –Seção 1 – Suplemento. P. 360, Anexo XX Ministério Da Saúde 2017:926.

17. Lee J., P.K. Rai, Y.J. Jeon, K.H. Kim, E.E. Kwon. The role of algae and cyanobacteria in the production and release of odorants in water. *Environ. Pollut.*, 227 (2017), pp. 252-262, 10.1016/j.envpol.2017.04.058.

18. Bruchet A. Chemical analytical techniques for taste and odour compounds. T.-F. Lin, S. Watson, A.M. Dietrich, I.(Mel) Suffet (Eds.), *Taste and odour in source and drinking water: Causes, controls, and consequences*, IWA Publishing, London, UK (2019), pp. 113-138.

19. Paerl H.W., R.S. Fulton, P.H. Moisaner, J. Dyble. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. *Sci. World J.*, 1 (2001), pp. 76-113, 10.1100/tsw.2001.16

20. Zamyadi, A.; Henderson, R.K.; Newton, K.; Capelo-Neto, J.; Newcombe, G. Assessment of the Water Treatment Process's Empirical Model Predictions for the Management of Aesthetic and Health Risks Associated with Cyanobacteria. *Water* 2018, 10, 590. <https://doi.org/10.3390/w10050590>

21. CEDAE, site –Qualidades da Água –Relatórios Guandu, em: <https://www.cedae.com.br/relatoriosguandu> e em <https://www.cedae.com.br/relatoriosguandu>.

22. Wagner G, Jardim R, Tschoeke DA, Loureiro DR, Ocaña KACS, Ribeiro ACB, et al. STINGRAY: System for integrated genomic resources and analysis. *BMC Res Notes* 2014;7:1–9. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-132>.

23. Blankenberg D, Kuster G Von, Coraor N, Ananda G, Lazarus R, Mangan M, et al. Galaxy: A web-based genome analysis tool for experimentalists. *Curr Protoc Mol Biol* 2010; 89:19.10.1-19.10.21. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1910s89>.

24. Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids*

Res. 2002 Jul 15;30(14):3059-66. doi: 10.1093/nar/gkf436. PMID: 12136088; PMCID: PMC135756.

25. John N. , A.V Koehler, B.R.E. Ansell, L. Baker, N.D. Crosbie, A.R. Jex. An improved method for PCR-based detection and routine monitoring of geosmin-producing cyanobacterial blooms. *Water Res.*, 136 (2018), pp. 34-40, 10.1016/j.watres.2018.02.041.

26. Te SH, Tan BF, Boo CY, Thompson JR, Gin KY-H. Genomics insights into production of 2-methylisoborneol and a putative cyanobactin by *Planktothricoides* sp. SR001. *Stand Genomic Sci* 2017;12:35. <https://doi.org/10.1186/s40793-017-0247-1>.

27. Azevedo OS., Pereira FWL, Paiva SAR. Água, Hidratação e Saúde. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN), 45912-002\_AF\_Nestle\_Folheto\_Águas\_Material Científico .indd 1, 2016. Disponível em: <https://docero.com.br/doc/x5808ne>

28. Barry M Popkin, Kristen E D'Anci, Irwin H Rosenberg, Water, hydration, and health, *Nutrition Reviews*, Volume 68, Issue 8, 1 August 2010, Pages 439–458, <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00304.x>

29. Lu K.Y., Y.T. Chiu, M. Burch, D. Senoro, T.F. Lin. A molecular-based method to estimate the risk associated with cyanotoxins and odor compounds in drinking water sources. *Water Res.*, 164 (2019), Article 114938, 10.1016/j.watres.2019.114938

30. Tsao H.W. , A. Michinaka, H.K. Yen, S. Giglio, P. Hobson, P. Monis, T.F. Lin. Monitoring of geosmin producing *Anabaena circinalis* using quantitative PCR. *Water Res.*, 49 (2014), pp. 416-425, 10.1016/j.watres.2013.10.028

31. Watson S.B. , P. Monis, P. Baker, S. Giglio. Biochemistry and genetics of taste- and odor-producing cyanobacteria. *Harmful Algae*, 54 (2016), pp. 112-127, 10.1016/j.hal.2015.11.008

32. Tucker CS (2000) Off-flavor problems in aquaculture. *Rev Fish Sci* 8:45–88.

33. Chiu Y.T. , Y.H. Chen, T.S. Wang, H.K. Yen, T.F. Lin. A qPCR-based tool to diagnose the presence of harmful cyanobacteria and cyanotoxins in drinking water sources. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 14 (2017), p. 547, 10.3390/ijerph14050547

34. Chiu Y.T. , H.K. Yen, T.F. Lin. An alternative method to quantify 2-MIB producing cyanobacteria in drinking water reservoirs: Method development and field applications. *Environ. Res.*, 151 (2016), pp. 618-627, 10.1016/j.envres.2016.08.034

35. Chorus, I., & Welker, M. (Eds.). (2021). *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003081449>
36. Su M., J. Yu, J. Zhang, H. Chen, W. An, R.D. Vogt, T. Andersen, D. Jia, J. Wang M. Yang. MIB-producing cyanobacteria (*Planktothrix* sp.) in a drinking water reservoir : Distribution and odor producing potential. *Water Res.*, 68 (2015), pp. 444-453, [10.1016/j.watres.2014.09.038](https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.038)
37. Moura P.G.; Filho Kotowski N.P.; Carvajal E.; Handam N.B.; Jardim R.; Sotero-Martins A. Scientific Eletronic Library On line, Scielo PrePrints (Pilot). Article submitted to Reports in Public Health ISSN1678-4464, 2020. DOI: [10.1590/SciELOPreprints.529](https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.529).
38. Te S.H., B.F. Tan, J.R. Thompson, K.Y.H. Gin. Relationship of microbiota and cyanobacterial secondary metabolites in *Planktothricoides*-dominated bloom. *Environ. Sci. Technol.*, 51 (2017), pp. 4199-4209, DOI: [10.1021/acs.est.6b05767](https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05767).
39. Wang Z. , G. Song, J. Shao, W. Tan, Y. Li, R. Li. Establishment and field applications of real-time PCR methods for the quantification of potential MIB-producing cyanobacteria in aquatic systems. *J. Appl. Phycol.*, 28 (2016), pp. 325-333, [10.1007/s10811-015-0529-1](https://doi.org/10.1007/s10811-015-0529-1)
40. Koltsidou I. Detection and quantification of taste and odor producing bacteria in Eagle Creek Reservoir. Purdue University (2019).
41. Chiu Y.T. , H.K. Yen, T.F. Lin. An alternative method to quantify 2-MIB producing cyanobacteria in drinking water reservoirs: Method development and field applications. *Environ. Res.*, 151 (2016), pp. 618-627, [10.1016/j.envres.2016.08.034](https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.08.034).
42. Su M. , V. Gaget, S. Giglio, M. Burch, W. An, M. Yang. Establishment of quantitative PCR methods for the quantification of geosmin-producing potential and *Anabaena* sp . in freshwater systems. *Water Res.*, 47 (2013), pp. 3444-3454, [10.1016/j.watres.2013.03.043](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.043).
43. Moore T.M. Molecular methods for the identification and quantification of cyanobacteria in surface water sources. Young University, Brigham (2019).
44. Nazir A. Review on Metagenomics and its Applications. *Imp J Interdiscip Res* 2016;2:277–86.
45. Singh J, Behal A, Singla N, Joshi A, Birbian N, Singh S, et al. Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances. *Biotechnol J* 2009;4:480–94. <https://doi.org/10.1002/biot.200800201>.
46. Bower PA, Scopel CO, Jensen ET, Depas MM, McLellan SL. Detection of Genetic Markers of Fecal Indicator Bacteria in Lake Michigan and

Determination of Their Relationship to Escherichia coli Densities Using Standard Microbiological Methods. Appl Environ Microbiol 2005;71:8305–13. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8305–8313.2005>.

### **Principais Contribuições dos Autores:**

**Adriana Sotero-Martins** – coordenação do projeto, responsável pelas coletas e processamento das amostras, orientação dos alunos, e organização do artigo. **Elvira Carvajal** - Contribuiu nas análises dos resultados, e da elaboração do artigo. **José Augusto Albuquerque dos Santos** - participou da elaboração do artigo. **Priscila Gonçalves Moura** – aluna de pós doutorado, contribuiu no processamento das amostras e nas análises dos resultados. **Natasha Berendonk Handam** – aluna de doutorado, participou das análises dos resultados, e da elaboração do artigo. **Nelson Peixoto Kotowski-Filho** - Contribuiu nas análises metagenômicas. **Rodrigo Jardim** - Contribuiu nas análises metagenômicas, e na elaboração do artigo. **Aloysio da Silva Ferrão-Filho** - participou da elaboração do artigo e na análise dos resultados.