

Ana Luíza Costa de Barcellos Vieira

Papel da matéria orgânica e dos microrganismos na dissolução redutiva do ferro a partir dos sedimentos de ambientes lóticos



Monografia apresentada ao Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
Dezembro / 2024

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia Geral do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação da Professora Carolina Neumann Keim.

CIP - Catalogação na Publicação

V658p Vieira, Ana Luíza Costa de Barcellos
Papel da matéria orgânica e dos microrganismos na
dissolução redutiva do ferro a partir dos sedimentos
de ambientes lóticos / Ana Luíza Costa de Barcellos
Vieira. -- Rio de Janeiro, 2024.
70 f.

Orientadora: Carolina Neumann Keim.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia, 2024.

1. Redução dissimilatória do ferro. 2. Fermentação.
3. Sedimentos de fundo. 4. Ambientes lóticos. 5.
Ferrozina. I. Neumann Keim, Carolina, orient. II.
Título.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO

ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA

ALUNO(A): ANA LUÍZA COSTA DE BARCELLOS VIEIRA

DRE: 120100928

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Fernanda de Ávila Abreu (Presidente)
 Prof. Vinicius Fortes Farjalla
 Dr. Bernardo Ferreira Braz
 Prof. Igor Nunes Taveira (Suplente)

Título da Monografia: "Papel da matéria orgânica e dos microrganismos na dissolução redutiva do ferro a partir dos sedimentos de ambientes lóticos"

Local: Sala de reuniões do Departamento de Microbiologia Geral, 10-59, no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ

Data e hora de início: 11 de dezembro de 2024 às 13:30h

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 40,0 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 11 de dezembro de 2024.

NOTA:

Banca Examinadora:

	Profa. Fernanda de Ávila Abreu (Presidente)
<u>10,0</u>	 Prof. Vinicius Fortes Farjalla
<u>10,0</u>	 Dr. Bernardo Ferreira Braz
<u>10,0</u>	 Prof. Igor Nunes Taveira (Suplente)
Aluno(a):	 Ana Luíza Costa de Barcellos Vieira
Orientador(a) (e coorientador):	 Profa. Carolina Neumann Keim
Coordenadora de TCC:	 Profa. Marinella Silva Laport

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a espiritualidade e a todos os meus que me ajudaram e permitiram eu estar onde estou hoje. Sou grata também aos que não são meus, mas que me acompanham e sempre estão aqui olhando e vibrando por mim. Vocês me motivam e me dão força quando eu não tenho mais de onde tirar.

À minha mãe que não mede esforços e palavras para me encorajar e diminuir minha ansiedade. Ao meu pai que sempre demonstrou seu carinho e apoio, sempre se preocupando se a cadeira estava confortável ou se a luz estava forte o suficiente. Meu amor por vocês é incondicional e imensurável.

Às minhas avós que não tiveram nem chance de me abraçar quando ingressei na faculdade, de onde quer que vocês estejam, vó Vilma, sua neta está se formando e vó Helena, sua “nega” conseguiu. Espero que estejam orgulhosas de mim.

À Ana Carolina, você é um vendaval na minha vida. Obrigada por passar, por ter deixado a porta aberta quando saiu e por termos tido a coragem de tentar outra vez.

Aos meus amigos que sempre estiveram disponíveis para ouvir minhas loucuras durante as aulas ou durante nossas incontáveis horas esperando o almoço no RU. Obrigada Carlos, Érica, Paloma, Larissa, Lorena e Tamara, os trabalhos da faculdade não seriam os mesmos sem vocês.

Aos meus familiares e amigos da vida, sou feliz por ter vocês na minha existência e por vocês terem me marcado, espero que a minha marca em vocês seja tão significativa e bonita quanto a de vocês em mim.

Ao grupo Crescer, sinto que estou no lugar certo, com os mentores certos, na família certa. Toda gratidão do mundo aos grãos mestres, mestres, professores, graduados e aos faixas brancas que me ensinam constantemente a importância da disciplina e perseverança.

Às “estagigatas” Adrielly, Ana Carolina, Ana Caroline, Anna Luísa, Izabel e Nicolle obrigada por não me odiarem pela cantoria desafinada e pelos picos de adrenalina no laboratório, obrigada por se interessarem nas minhas histórias. Sentirei saudade dos nossos momentos de descontração.

Sou grata por todos os ensinamentos, Carolina, muitíssimo obrigada por toda a sua orientação durante o estágio. Espero ser uma profissional tão boa quanto você.

Aos responsáveis pelo Laboratório de Biotecnologia Ambiental e de Leveduras e aos pelo Laboratório de Biomineralização, por permitir utilização dos equipamentos.

Gratidão aos membros da banca por dedicarem seu tempo e conhecimento na avaliação deste trabalho.

Por último, mas não menos importante, sou grata a mim, sei que não dou o devido crédito ao que faço, mas sou grata por não desistir. Muito obrigada também, Conceição, por segurar minha mão quando o que mais anseio é jogar tudo para o alto.

“Se eu tivesse um mundo só meu, tudo seria bobagem. Nada seria o que é, porque tudo seria o que não é. E, ao contrário, o que é, não seria. E o que não seria, seria. Entende?”

RESUMO

ANA LUÍZA COSTA DE BARCELLOS VIEIRA

PAPEL DA MATÉRIA ORGÂNICA E DOS MICRORGANISMOS NA DISSOLUÇÃO REDUTIVA DO FERRO A PARTIR DOS SEDIMENTOS DE AMBIENTES LÓTICOS

Orientador: Carolina Neumann Keim

Na crosta terrestre, o ferro (Fe) pode ser encontrado em dois estados de oxidação: Fe(II) ou (Fe²⁺), e Fe(III) ou (Fe³⁺). A forma reduzida Fe(II) é mais solúvel do que a forma oxidada Fe(III), comumente encontrada compondo óxidos/hidróxidos. Nos sedimentos anóxicos de rios, há microrganismos capazes de interligar a oxidação de matéria orgânica à redução de Fe(III). Tais microrganismos, como bactérias dos gêneros *Geobacter* e *Shewanella*, podem usar o Fe(III) como aceptor final de elétrons. Fermentadores, como *Clostridium* spp. podem reduzir o Fe(III) a Fe(II) para melhorar o balanço redox. A redução do Fe pode levar à dissolução de minerais, ocasionando a mobilização de elementos-traço, regularmente encontrados associados aos óxidos/hidróxidos de ferro dos sedimentos. Desta forma, o destino desses elementos no ambiente está associado ao ciclo redox do ferro. O objetivo deste trabalho é investigar o papel dos microrganismos e da matéria orgânica na dissolução redutiva do Fe a partir dos sedimentos de fundo de diferentes rios brasileiros e comparar a redução do Fe entre eles. Para isso, foram coletados água e sedimentos para a construção de microcosmos anaeróbios em seis rios brasileiros. No experimento curto, construímos microcosmos anaeróbios contendo diferentes fontes de carbono: acetato de sódio 6,8 e 34 g/L; extrato de levedura 4 e 20 g/L; e glicose 3 e 15 g/L. Havia também um controle estéril, onde houve adição de glicose 15 g/L, mas a água e sedimentos do rio foram autoclavados; e um controle vivo, onde não houve adição de matéria orgânica. Após 7, 14, 21, e 28 dias, foram sacrificados 6 tubos para medir as concentrações de Fe(II) e o pH. No experimento longo, que teve duração de 20 a 70 semanas, foram feitos microcosmos contendo acetato de sódio 34 g/L, glicose 15 g/L e o controle vivo. A cada 14 dias, foram retirados 20 mL de água para medir Fe(II) e pH, água esta repostada em seguida por água do rio contendo a fonte de carbono correspondente. Os resultados mostraram significativamente maiores concentrações de Fe(II) nos microcosmos com microrganismos vivos do que nos autoclavados. As fontes de carbono que mais favoreceram a redução do ferro foram glicose e extrato de levedura, levando a concentrações médias de Fe(II) a cerca de 1000 mg.L⁻¹ em dois dos rios estudados. Quanto maior a concentração de glicose e extrato de levedura, maior a concentração de Fe(II). Houve redução de pH em todos os microcosmos adicionados com glicose, indicando fermentação. Os microcosmos com maior mobilização de Fe(II) foram os dos ambientes mais afetados pela atividade antropogênica. Portanto, existe atividade de microrganismos redutores de Fe nos sedimentos de todos os ambientes estudados, e a matéria orgânica, principalmente aquela fermentável como glicose e extrato de levedura, é usada como combustível para a redução do ferro.

Palavras-chave: redução dissimilatória do ferro; fermentação; sedimentos de fundo; ambientes lóticos; ferrozina.

ABSTRACT**ANA LUÍZA COSTA DE BARCELLOS VIEIRA****ROLE OF ORGANIC MATTER AND MICROORGANISMS IN THE REDUCTIVE DISSOLUTION OF IRON FROM RIVER SEDIMENTS****Advisor: Carolina Neumann Keim**

In the Earth's crust, iron can be found in two oxidation states: Fe(II) or (Fe²⁺), and Fe(III) or (Fe³⁺). The reduced form, Fe(II), is more soluble than the oxidized form, Fe(III), which is commonly found as part of oxides/hydroxides. In the anoxic sediments of rivers, there are microorganisms able to link the oxidation of organic matter to the reduction of Fe(III). Such microorganisms, like bacteria from the genera *Geobacter* and *Shewanella*, can use Fe(III) as a terminal electron acceptor. Fermenters, such as *Clostridium* spp., can reduce Fe(III) to Fe(II) to improve their redox balance. Iron reduction can lead to mineral dissolution, resulting in the mobilization of trace elements often associated with iron oxyhydroxides in sediments. Consequently, the fate of these elements in the environment is tied to the iron redox cycle. The aim of this work is to investigate the role of microorganisms and organic matter in the reductive dissolution of Fe from bottom sediments of different Brazilian rivers and to compare Fe reduction across them. To achieve this, water and sediment samples were collected in six Brazilian rivers for the construction of anaerobic microcosms. In the short-term experiment, anaerobic microcosms were amended with different carbon sources: sodium acetate 6.8 and 34 g/L; yeast extract 4 and 20 g/L; and glucose 3 and 15 g/L. There was also a sterile control, in which glucose (15 g/L) was added, but the river water and sediments were autoclaved, and a live control, where no organic matter was added. After 7, 14, 21, and 28 days, six tubes were sacrificed to measure Fe(II) concentrations and pH. In the long-term experiment, which lasted 20 to 70 weeks, microcosms were prepared with sodium acetate (34 g/L), glucose (15 g/L), and the live control. Every 14 days, 20 mL of water was sampled to measure Fe(II) and pH, which was replaced with river water containing the corresponding carbon source. The results showed significantly higher Fe(II) concentrations in microcosms with live microorganisms than in the autoclaved ones. The carbon sources that most favored iron reduction were glucose and yeast extract, which led to average Fe(II) concentrations to approximately 1000 mg.L⁻¹ in two of the studied rivers. Higher concentrations of glucose and yeast extract led to higher Fe(II) concentrations. There was a pH reduction in all microcosms amended with glucose, indicating fermentation. The microcosms with the highest Fe(II) mobilization were from the environments most affected by anthropogenic activity. Thus, there are Fe-reducing microbial activity in the sediments of all studied environments, and organic matter, especially fermentable substrates like glucose and yeast extract, is used as the fuel for iron reduction.

Key-words: dissimilatory iron reduction; fermentation; bottom sediments; lotic ambients of Brazil; Ferrozine

RESUMO PARA LEIGOS

ANA LUÍZA COSTA DE BARCELLOS VIEIRA

PAPEL DA MATÉRIA ORGÂNICA E DOS MICRORGANISMOS NA DISSOLUÇÃO REDUTIVA DO FERRO A PARTIR DOS SEDIMENTOS DE AMBIENTES LÓTICOS

Orientador: Carolina Neumann Keim

Em ambientes aquáticos, como rios, o ferro pode existir em diferentes formas químicas que variam em solubilidade. Nos sedimentos de rios, onde o gás oxigênio, na forma dissolvida, não está em abundância, certos microrganismos transformam o ferro, fazendo com que ele vá de algo menos solúvel (Fe^{3+}) para algo mais solúvel (Fe^{2+}) em água. Isso porque os microrganismos podem utilizar o ferro como parte de seus processos metabólicos para obter energia através de processos chamados fermentação e redução dissimilatória do ferro. O objetivo deste estudo é entender melhor a influência desses microrganismos e de diferentes tipos de matéria orgânica na mobilização do ferro dos sedimentos dos rios. Para isso, foram coletadas amostras de água e sedimentos do fundo de diferentes rios brasileiros para a construção de microcosmos, ambientes em miniatura feitos dentro de frascos de vidro. Os microcosmos foram utilizados para simular as condições encontradas nos sedimentos dos rios, onde não há gás oxigênio dissolvido. Diferentes fontes de carbono, como glicose, acetato de sódio ou extrato de levedura, foram inseridas em diferentes microcosmos para alimentar os microrganismos presentes na água e sedimentos retirados do local de coleta. Após períodos específicos de incubação, amostras foram retiradas para medir o pH e quantificar o ferro dissolvido. Nos resultados, observamos que certas fontes de carbono, como extrato de levedura e glicose, intensificam a atividade metabólica dos microrganismos, resultando em uma maior concentração de ferro dissolvido na água. Isso demonstra a importância dos microrganismos e da matéria orgânica na regulação do ciclo biogeoquímico do ferro nos ecossistemas aquáticos. Além disso, nos ambientes que sofrem maiores impactos das atividades humanas, como o vazamento de rejeitos de minério de ferro e o lançamento de esgotos sem tratamento, a dissolução do ferro a partir dos sedimentos é mais exacerbada, adicionando mais um efeito negativo da falta de cuidado com nossos rios para a qualidade da água.

Lista de figuras

Figura 1- Ciclo redox do ferro em pH neutro.....	2
Figura 2- Mecanismos de acesso ao ferro realizados por bactérias redutoras de ferro.....	4
Figura 3- Esquema da precipitação e dissolução do Fe associado à mobilização e imobilização de elementos-traço.....	5
Figura 4- Esquema das áreas que compõem um ambiente lótico.....	7
Figura 5-Local de Coleta no Rio Pratinha.....	10
Figura 6- Local de Coleta no Rio do Salto.....	11
Figura 7- Local de Coleta no Rio Tubarão.....	12
Figura 8- Local de Coleta no Rio Itambacuri.....	12
Figura 9- Local de Coleta no Rio Doce.....	13
Figura 10- Local de Coleta no Córrego Cachoeira Grande.....	14
Figura 11- Relação dos pontos de coleta dos seis rios no mapa do Brasil.....	15
Figura 12- Imagens dos sedimentos de cada ambiente, observado através de microscópio estereoscópico.....	21
Figura 13- Micrografias ópticas dos sedimentos.....	22
Figura 14- Micrografia ópticas dos sedimentos (continuação).....	23
Figura 15- Largura dos grãos de sedimentos.....	24
Figura 16- Fator de forma dos grãos sedimentares.....	25
Figura 17- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Pratinha.....	27
Figura 18- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio do Salto.....	28
Figura 19- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Tubarão.....	29

Figura 20- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Itambacuri.....	31
Figura 21- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Doce.....	32
Figura 22- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Córrego Cachoeira Grande.....	33
Figura 23- Comparação das concentrações de Fe(II) dissolvido aos 28 dias de incubação no experimento curto.....	36
Figura 24- Correlação entre Fe(II) dissolvido e pH.....	38
Figura 25- Experimento longo do Rio Pratinha.....	39
Figura 26- Experimento longo do Rio do Salto.....	39
Figura 27- Experimento longo do Rio Tubarão	39
Figura 28- Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos do Rio Itambacuri no experimento longo.....	40
Figura 29- Experimento longo do Rio Doce	40
Figura 30- Experimento longo do Córrego Cachoeira Grande	40

Lista de tabelas

Tabela 1 - Desenho experimental dos experimentos curtos.....	18
Tabela 2- Desenho experimental dos experimentos longos.....	19
Tabela 3- Temperatura e pH da água de cada ambiente durante a coleta.....	20
Tabela 4- Distribuição dos grãos de sedimentos de acordo com o tamanho.....	24
Tabela 5- Valores de P obtidos pelo teste <i>t</i> de Student a partir da comparação dos dados de concentração de Fe(II) obtidos nos microcosmos experimentais adicionados de diferentes substratos orgânicos aos 28 dias de incubação.....	35
Tabela 6- Média e desvio padrão da concentração de Fe(II) nos microcosmos aos 28 dias de incubação.....	37
Tabela 7- Média dos valores de pH dos microcosmos aos 28 dias de incubação.....	37
Tabela 8 - Valores de concentração de Fe(II), pH e número de dias de incubação dos microcosmos de glicose 15 g/L com maiores concentrações de Fe(II) dissolvido no experimento longo.....	40
Tabela 9 – Fe(II) retirado dos microcosmos no experimento longo.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA: Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico

CCG: Córrego Cachoeira Grande

Ibama: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IGAM: Instituto Mineiro de Gestão das Águas

ITA: Rio Itambacuri

PR: Rio Pratinha

DC: Rio Doce

SAL: Rio do Salto

SGB: Serviço Geológico do Brasil

SIRHESC: Sistema de Informações sobre Recursos Hídricos do Estado de Santa Catarina

SNIS: Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento

TUB: Rio Tubarão

ÍNDICE

RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
RESUMO PARA LEIGOS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Ciclo do Ferro em ambientes lóaticos.....	1
1.2 Microrganismos ferro-redutores.....	2
1.2.1 Fermentação acoplada a redução de Fe(III) a Fe(II).....	3
1.2.2 Redução dissimilatória de ferro e manganês.....	3
1.3 Elementos-traço e os óxidos de Fe e Mn.....	4
1.4 Mineração de carvão, pirita e o drenado ácido de mina.....	6
1.5 Interações água - sedimentos nos ambientes lóaticos.....	7
2. JUSTIFICATIVA.....	8
3. OBJETIVOS.....	8
3.1 Objetivos gerais.....	8
3.2 Objetivos específicos.....	9
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
4.1 Descrição dos ambientes estudados.....	9
4.1.1 Rio Pratinha, BA.....	9
4.1.2 Rio do Salto Parque Estadual do Ibitipoca (MG).....	10
4.1.3 Rio Tubarão,SC.....	11
4.1.4 Rio Itambacuri, MG.....	12
4.1.5 Rio Doce, MG.....	13
4.1.6 Córrego Cachoeira Grande, RJ.....	14
4.2 Coleta de amostras.....	14
4.3 Caracterização dos sedimentos.....	15
4.3.1 Peso seco X peso úmido.....	15
4.3.2 Microscopia ótica.....	15

4.4 Construção de microcosmos.....	16
4.4.1 Experimentos curtos.....	16
4.4.2 Experimentos longos.....	17
4.5 Quantificação de Fe(II) por espectrofotometria pelo método da ferrozina....	19
4.6 4.6 Cálculos, análise estatística e elaboração de gráficos.....	20
5 RESULTADOS.....	20
5.1 Caracterização da água e sedimentos dos rios estudados.....	20
5.2 Quantificação de ferro ferroso dissolvido no experimento curto.....	25
5.3 Relação Fe(II) dissolvido e pH no experimento curto.....	37
5.4 Quantificação de ferro ferroso e pH dissolvido no experimento longo.....	38
6 DISCUSSÃO.....	42
6.1 Caracterização dos sedimentos dos rios.....	42
6.2 Redução do Fe(III) por microrganismos autóctones em microcosmos - experimento curto.....	43
6.3 Correlação da redução do Fe(III) por microrganismos e alteração do pH dos microcosmos do experimento curto.....	47
6.4 Redução do Fe(III) por microrganismos autóctones em microcosmos - experimento longo.....	48
7 CONCLUSÕES.....	49
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

O ferro é um elemento muito abundante na Terra, correspondendo a cerca de 5% (massa) da crosta terrestre (Taylor e Konhauser, 2011). Ele é um micronutriente importante para a maioria dos seres vivos, estando envolvido em diversos processos fisiológicos, tanto de procariotos quanto de eucariotos (Madigan et al., 2016). Vários procariotos utilizam o ferro em mecanismos de transferência de elétrons, utilizando a oxidação e redução desse elemento como parte do seu processo de conservação de energia.

O ferro pode apresentar três estados de oxidação: o Fe^{2+} , Fe(II), ou ferro ferroso; o Fe^{3+} , Fe(III), ou ferro férrico; e o Fe^0 , Fe(0) ou ferro metálico. O ferro metálico é obtido na fundição de minérios de ferro e não é encontrado naturalmente na crosta terrestre. Já o Fe(II) é a forma mais reduzida, e Fe(III) a forma mais oxidada presente na crosta terrestre.

Em ambientes aquáticos e terrestres, o Fe(III) é menos solúvel, ocorrendo predominantemente em minerais como os óxidos-hidróxidos de ferro ferrihidrita ($5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), goetita ($\alpha\text{-FeOOH}$) e hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Já o Fe(II) é mais solúvel, podendo ocorrer como íons Fe^{2+} em solução, e também em minerais como a magnetita ($\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$), pirita (FeS_2), siderita (FeCO_3) e vivianita ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), dentre outros (Kappler et al., 2021).

1.1 Ciclo do Ferro em ambientes lóticos

Em ambientes como solos alagados, pântanos e sedimentos de rios e lagos, onde há tanto regiões anóxicas quanto aeradas, o ciclo redox do ferro é consequência de processos químicos e/ou microbianos que dependem da concentração de O_2 e do pH. O Fe(III) dos óxidos e hidróxidos de ferro pode ser quimicamente ou microbiologicamente reduzido a Fe(II), o que pode levar à dissolução de minerais, já que o Fe(II) resultante é mais solúvel. Em pH neutro, o Fe(II) solúvel resultante pode ser oxidado a Fe(III) pelo O_2 , NO_3^- ou Mn(IV) (Figura 1) (Kappler e Straub, 2005; Melton et al., 2014; Kappler et. al., 2021).

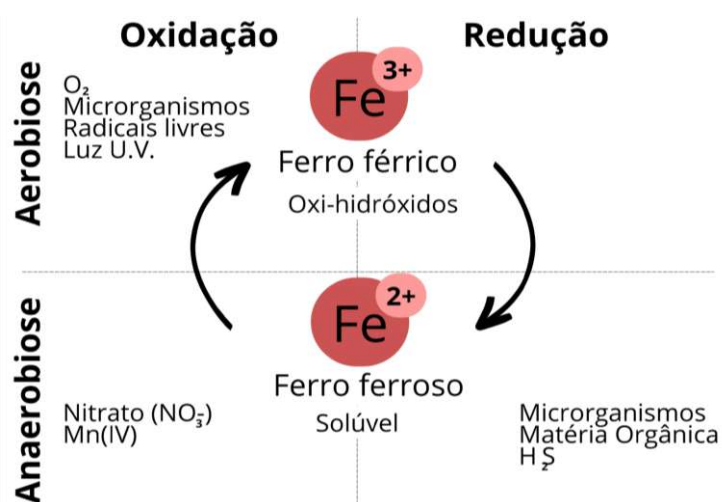


Figura 1 - Ciclo redox do ferro em pH neutro. Imagem produzida com base em informações de Kappler e Straub (2005).

Em aerobiose e pH neutro a alcalino, a maior parte do ferro dissolvido (Fe(II)) sofre oxidação química pelo O_2 (Kim e Gadd, 2008), mas outros fatores podem contribuir para a oxidação do Fe(II) em aerobiose: presença de radicais livres, radiação ultravioleta, e oxidação microbiológica. Em altas concentrações de O_2 , há predominância de oxidação química, mas em ambientes microaeróbios e/ou em pH ácido, há predominância de oxidação microbiana (Madigan et. al., 2016). Já em anaerobiose, o ferro pode ser oxidado pela reação com o nitrato (NO_3^-) ou com o Mn(IV), ou por atividade microbiana (Kappler et al., 2021).

A redução do Fe(III) a Fe(II) em anaerobiose pode acontecer por processos químicos, por exemplo reação com H_2S , ou com ácidos húmicos e fúlvicos, compostos derivados da decomposição de matéria orgânica. Além disso, o Fe(III) pode ser reduzido a Fe(II) por processos microbianos, através da redução dissimilatória do ferro, ou acoplado à fermentação (Lovley, 1987; Melton et al., 2014; Kappler et al., 2021).

1.2 Microrganismos ferro-redutores

Diversos estudos mostraram que bactérias ferro-redutoras são comuns em solos, sedimentos de ambientes aquáticos e reservatórios de água subterrânea, e que elas contribuem para os ciclos biogeoquímicos de diversos elementos nesses locais (Lovley, 1987; Lovley e Phillips, 1988; Tebo et al., 2004; Kappler e Straub, 2005; Gounou et al., 2010; Lentini et al., 2012; Melton et al., 2014; List et al., 2019; Santos, 2019; Kappler et. al., 2021; Sanjad, 2021; Santos et al., 2023). Os microrganismos presentes nos sedimentos são capazes de beneficiar o seu crescimento interligando a oxidação de matéria orgânica à redução de Fe(III) e/ou de Mn(IV). O tipo e concentração de matéria orgânica possui papel fundamental na eficiência da redução

de óxidos de ferro e manganês, juntamente com o pH e o oxigênio disponível (Lentini et al., 2012; Santos, 2019; Su et al., 2020; Sanjad, 2021; Santos et al., 2023).

1.2.1 Fermentação acoplada a redução de Fe(III) a Fe(II)

Durante a fermentação, vários microrganismos utilizam a redução de Fe(III) a Fe(II) para maior eficiência na utilização da glicose, acelerar o crescimento, e/ou melhorar o balanço redox (Dong et al., 2017; Li et al., 2019; List et al., 2019), por exemplo várias afiliadas ao gênero *Clostridium* (List et al., 2019).

List e colaboradores (2019), em um estudo utilizando uma cepa de *Clostridium acetobutylicum*, investigaram a redução do ferro, tanto em forma de óxido de ferro hidratado quanto na forma solúvel. Eles observaram que a redução do óxido de ferro hidratado na presença de mediadores eletrônicos, tanto endógenos (riboflavina) quanto exógenos (resazurina, resorufina e antraquinona-2,6-dissulfonato), é mais eficiente. Além disso, constataram que a redução do ferro atua como um tampão de pH e modifica o fluxo de carbono e elétrons, favorecendo a produção de produtos de fermentação menos reduzidos.

1.2.2. Redução dissimilatória de ferro e manganês

Diversos microrganismos acoplam a oxidação da matéria orgânica à redução de óxidos e hidróxidos de Fe(III) e/ou Mn(IV), conservando energia por meio de uma cadeia transportadora de elétrons. O Fe(III) e o Mn(IV) são utilizados como aceptores finais de elétrons na redução dissimilatória, sendo reduzidos a Fe(II) e Mn(II), respectivamente. Em geral, utilizam-se produtos de fermentação como doadores de elétrons no cultivo destes microrganismos (Lovley e Phillips, 1988; Kùsel e Dorsch, 2000; Tebo et al., 2004). Esta é uma forma de respiração anaeróbia, mais conhecida em bactérias dos gêneros *Geobacter* e *Shewanella* (Zachara et al. 1998).

As espécies de *Geobacter* e *Shewanella* usam diferentes formas de acessar o Fe(III) presente nos óxidos e hidróxidos de Fe (Figura 2): o contato direto entre superfície celular-óxido de ferro que permite a transferência de elétrons (Kappler e Straub, 2005); liberação de sideróforos ou quelantes de Fe(III), que sequestram e capturam o Fe(III) presente nos minerais (Kim e Gadd, 2008; Kraemer et al., 2005); utilização de moléculas orgânicas solúveis que servem como carreadores de elétrons extracelulares (Ross, Brantley e Tien 2009); e a produção de pili condutor e/ou citocromo C multi-heme, estruturas extracelulares que seriam capazes de conduzir eletricidade e transferir elétrons da célula para os minerais (Fitzgerald et al., 2012).

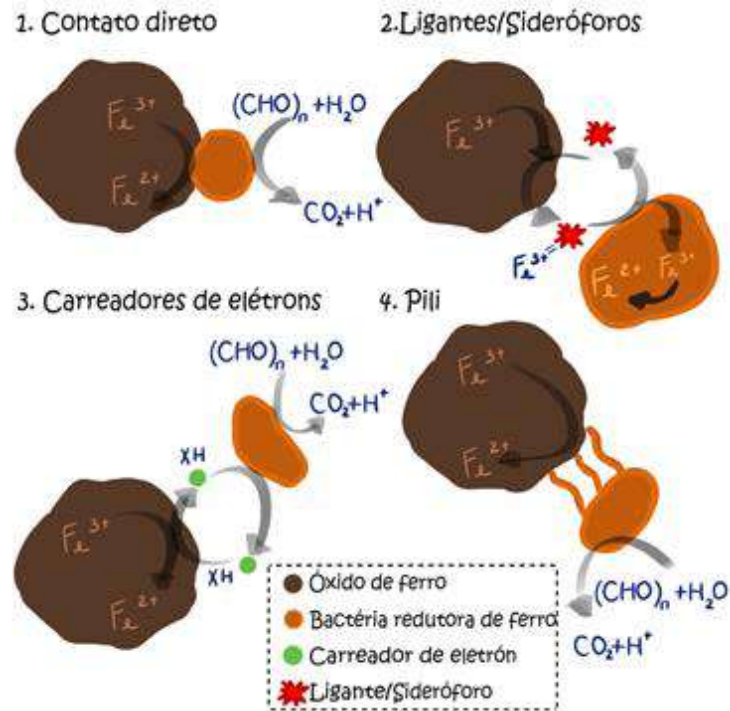


Figura 2 - Mecanismos de acesso ao Fe(III) realizados por bactérias redutoras de ferro. Imagem produzida com base em informações de Esther et al. (2015).

1.3 Elementos-traço e os óxidos de Fe e Mn

Os elementos-traço podem ser definidos como metais catiônicos e aniônicos que são encontrados no ambiente em concentrações baixas, em torno de $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ou menos (Embrapa, 2009). A denominação “metal pesado” é utilizada para se referir a metais com densidade acima de $5\text{g}/\text{cm}^3$, mas inclui elementos muito comuns na crosta terrestre e de baixíssima toxicidade, como o ferro, por exemplo. Sendo assim, utilizaremos o termo “elementos-traço” neste trabalho.

Vários elementos-traço, mesmo que em baixas concentrações, são considerados essenciais, pois são nutrientes para microrganismos, animais e plantas, contudo, dependendo de sua concentração, em que espécies químicas ele ocorre, e a forma de exposição, podem ser tóxicos podendo danificar de organismos mais sensíveis até ecossistemas inteiros (Lehninger, 2014). Há também os elementos-traço não essenciais, alguns deles tóxicos em baixíssimas concentrações, como o Hg.



Figura 3 - Esquema da precipitação e dissolução do Fe associado à mobilização e imobilização de elementos-traço. Imagem produzida com base em informações de Kappler e Straub (2005).

No ambiente aquático, Al, Cd, Co, Cr, Cu, Ga, Ge, In, Hg, Mn, Nd, Ni, Rh, Pb, Po, Pu, Ra, Se, Sc, Sn, Th, Ti, U, V, e Zn são comumente encontrados em óxidos e hidróxidos de ferro e manganês dos sedimentos, mas quando sofrem dissolução, são considerados elementos-traço (Cornell e Schwertmann, 2003; Tebo et al., 2004; Kappler e Straub, 2005). Por isso, o destino destes elementos no ambiente em geral acompanha o destino dos óxidos de ferro e manganês (Tebo et al., 2004; Kappler e Straub, 2005; Souza et al., 2015).

Num ambiente anaeróbico, os elementos-traço podem ser dissolvidos junto com os óxidos de ferro e manganês, pela ação de substâncias como o H_2S ou de microrganismos ferro-redutores, tanto as bactérias fermentadoras quanto as que fazem a redução dissimilatória de ferro. Ambos os tipos de microrganismos são heterotróficos e, portanto, o metabolismo e o crescimento dependem da disponibilidade de matéria orgânica biodegradável (Lovley, 1987; Melton et al., 2016; Kappler et al., 2021). Gounou e colaboradores (2010) observaram uma correlação positiva entre a redução de Fe(III) para Fe(II) e a dissolução de outros metais, principalmente Co, Cu, Mn e Ni, a partir de sedimentos de rios. Nos experimentos deles, foi utilizada a glicose como fonte de carbono e doador de elétrons, o que levou à diminuição do pH e à redução do Fe(III) dos óxi-hidróxidos de ferro a Fe(II) devido à ação microbiana. Em solos, foi mostrada a dissolução de elementos-traço associada a redução de Fe(III) e/ou Mn(IV) por *Shewanella* sp., que foi altamente dependente da fonte de carbono/doador de elétrons utilizado. Dentre todos os elementos analisados, o ferro e o manganês foram dissolvidos de forma mais eficiente, principalmente quando foi utilizada a glicose (Ayyasamy et al., 2009). Em microcosmos construídos com sedimentos de fundo de rios, também foi observada a importância da matéria orgânica biodegradável e a maior eficiência da glicose na dissolução de elementos-traço por microrganismos ferro-redutores (Santos, 2019; Sanjad, 2021; Santos et al.

2023). Por outro lado, os metais dissolvidos podem ser adsorvidos, ou precipitar em minerais secundários, passando a fazer parte dos sedimentos, onde podem permanecer por muito tempo (Souza et al, 2015).

1.4 Mineração de carvão, pirita e o drenado ácido de mina

A pirita (FeS_2) é um mineral abundante e naturalmente encontrado junto ao carvão betuminoso. Durante a extração de carvão mineral, a pirita é considerada um rejeito e, quando o manejo ou eliminação da pirita é realizado de forma irresponsável, a pirita pode ser liberada no ambiente (Madigan et al., 2016). Ao entrar em contato com o O_2 e H_2O , inicia-se o processo de oxidação química e/ou microbiana da pirita, que é a principal causa do drenado ácido de mina, um lixiviado ácido e rico em elementos-traço dissolvidos, que prejudica ambientes aquáticos, solos, vegetação e cadeias tróficas (Nordstrom, 2011; Brandelero et al., 2016; Madigan et al., 2016). Diversos microrganismos acidófilos são capazes de oxidar a pirita em ambiente ácido, acelerando enormemente o processo. Além da liberação dos elementos-traço associados à pirita, o pH ácido leva à dissolução de outros minerais e à liberação de elementos-traço que outrora estavam estáveis (Nordstrom, 2011).

Em um primeiro momento, acontece a oxidação lenta, onde somente o contato com O_2 e a água é suficiente para a oxidação, a chamada reação de iniciação, que leva à oxidação de HS^- a SO_4^{2-} , o que leva à liberação de íons H^+ no ambiente. Com o pH da água mais ácido, o metabolismo de microrganismos ferro-oxidantes acidófilos é beneficiado, e a oxidação do ferro passa a ser catalisada por microrganismos como arqueas e bactérias, como *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Leptospirillum ferrooxidans* (Nordstrom, 2011; Madigan et al., 2016). Esse lixiviado ácido, rico em ácido sulfúrico, é denominado drenado ácido de mina (AMD, na sigla em inglês). Quando o drenado ácido de mina entra num sistema aquático, começa um processo de acidificação e, conseqüentemente, dissolução de elementos-traço a partir de minerais dos sedimentos (Madigan et al., 2016).

Por outro lado, podem ser precipitados óxidos/hidróxidos secundários como goethita, schwertmannita e jarosita a partir do drenado ácido de mina. Estes minerais podem incorporar ou adsorver elementos-traço do ambiente, como As, Cu, Pb, Ni, Cd e Zn arsênio (Asta et al., 2010; Duquesne et al., 2003; Baleeiro et al., 2018; Hrselová et al., 2024).

1.5 Interações água-sedimentos em rios

A troca de nutrientes entre a coluna sedimentar e a coluna d'água é importante para a manutenção e reciclagem de processos de transporte, microbianos, fisiológicos e químicos (Baumgarten et al, 2001). O local onde essas mudanças ocorrem foi denominado de “Zona Hiporreica” pelo hidrobiologista romeno Traian Orghidan (1917-1985) (Negrea, 2004). Nessa região, não acontece somente a troca de nutrientes e íons, mas também a troca entre água subterrânea e a da superfície.

Atualmente, considera-se que os rios consistem de vários compartimentos: a coluna d'água, a zona hiporreica, e o aquífero associado (Figura 4). A água destes compartimentos não é estanque, mas interage continuamente com os outros compartimentos, através de difusão, ou de fluxos de água, cuja direção varia de acordo com a altura do lençol freático e o nível da água superficial (Williams, 1993).

Por isso, os processos biogeoquímicos como os de oxido-redução de elementos no ambiente anóxico dos sedimentos de fundo dos rios influenciam na qualidade da água e na disponibilidade de íons da coluna d'água. De modo similar, os processos biogeoquímicos que ocorrem na coluna d'água e, de modo mais abrangente, em toda a bacia de drenagem, influenciam os sedimentos de fundo, a zona hiporreica e o aquífero associado (Williams, 1993; Zarf e Dunn, 2022).

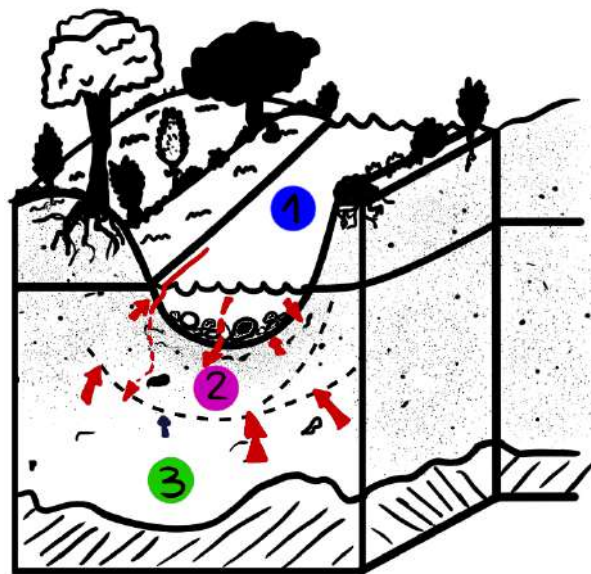


Figura 4 - Esquema das regiões que compõem um ambiente lótico. O Sistema fluvial é composto por água da superfície (1; azul), zona hiporreica (2; rosa), e água subterrânea (3; verde). A Zona hiporreica é a zona de troca entre a água de superfície e a água subterrânea. As setas ilustram os fluxos de água possíveis entre os compartimentos. Imagem produzida com base em informações de Williams (1993).

Os rios são sistemas muito dinâmicos e complexos. A todo momento acontece difusão, onde os solutos que estão na zona hiporreica se difundem para o curso d'água e vice-versa. Ao mesmo tempo, particulados em suspensão na água se depositam nos sedimentos de fundo e/ou planície de inundação. Com o contato entre a água corrente e a água intersticial dos sedimentos de fundo rio (zona hiporreica), as propriedades químicas podem ser alteradas, como por exemplo o oxigênio dissolvido que pode ser consumido pela reação com substâncias reduzidas, e o material orgânico que pode ser depositado na superfície dos sedimentos (Williams, 1993).

2 JUSTIFICATIVA

Os ciclos biogeoquímicos do ferro, manganês e elementos-traço estão interligados, dado que os óxidos de ferro e manganês são considerados os principais carreadores de elementos-traço no ambiente. Quando há dissolução ou precipitação de minerais de ferro, há também a dissolução ou precipitação de elementos-traço, respectivamente. No entanto, os processos microbianos relacionados à dissolução de óxidos de ferro e manganês nos sedimentos de ambientes aquáticos são muito pouco conhecidos. Temos como hipótese que há microrganismos nos sedimentos de todos os ambientes aquáticos, que são capazes de acoplar a oxidação de matéria orgânica à dissolução redutiva de ferro e manganês, levando à dissolução de minerais e à liberação de elementos-traço.

Há uma grande variedade de ambientes lóticos no Brasil, derivada de uma grande diversidade de formações geológicas e processos naturais. A água e os sedimentos de cada rio refletem a composição de toda a bacia de drenagem a montante, e sofre influências do clima, da vegetação, de animais e microrganismos. Além disso, ações antrópicas como a mineração, agricultura e o lançamento de efluentes e resíduos sólidos geram impactos enormes. Nesse contexto de diversidade natural e antrópica, o que pode ser considerado “normal” e o que poderia ser considerado “alterado” em termos de dissolução redutiva do ferro a partir dos sedimentos?

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a contribuição dos microrganismos e da matéria orgânica na dissolução redutiva do ferro ao longo do tempo em diversos rios a nível de microcosmos.

3.2 Objetivos específicos

Observar como diferentes fontes de carbono, simples e complexa, fermentáveis e não fermentáveis, podem influenciar na dissolução redutiva do ferro por microrganismos autóctones ao longo do tempo, por cerca de um mês.

Avaliar a quantidade de ferro liberada, e o tempo necessário para depleção do ferro bio-redutível dos sedimentos em experimentos com duração de até um ano e quatro meses.

Comparar a dissolução redutiva do ferro a partir dos sedimentos em diferentes rios, incluindo rios impactados e não impactados por mineração de ferro, mineração de carvão, agricultura, e/ou lançamento de esgotos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Descrição dos ambientes estudados

4.1.1 Rio Pratinha, BA

O Rio Pratinha está situado na Chapada Diamantina (Palmeiras, BA) e é afluente do Rio Santo Antônio, que por sua vez, é afluente do Rio Paraguaçu. O Rio Pratinha drena áreas de carste, onde a taxa de dissolução de minerais é relativamente alta, o que leva à formação de cavernas naturais. Ele nasce em uma caverna e encontra-se no Bioma Caatinga, numa região explorada pelo ecoturismo e agropecuária (Guimarães et al., 2023).

A Chapada Diamantina é composta principalmente por rochas metamórficas e sedimentares com processos de formação muito antigos, a maioria formada nos períodos Proterozóico e Arqueano (Guimarães et al., 2023). A região do sítio de coleta fica na margem de diversas sequências carbonáticas e litologias siliciclásticas mesoproterozóicas (Laureano, 1998).

Gonçalves, 2015 durante uma análise de teores de cloretos na bacia hidrográfica do Rio Paraguaçu, expôs que o Rio Pratinha estava dentro dos valores de referência da Resolução CONAMA 357/2005, obtendo o valor mínimo de 6 e o máximo 31 mg.L⁻¹ (máximo permitido 250 mg.L⁻¹), durante os anos 2003-2005.

Observações de campo apontam para água dura e sedimentos ricos em matéria orgânica em decomposição, assim como debris de rochas calcáreas e quartzo. A cor escura e o cheiro característico de sulfeto indicam que a maior parte do ferro presente nos sedimentos está na forma de sulfeto ferroso. No contexto deste trabalho, o Rio Pratinha pode ser considerado um rio controle, pois o ponto de coleta se localiza próximo à nascente, em área explorada principalmente pelo ecoturismo.

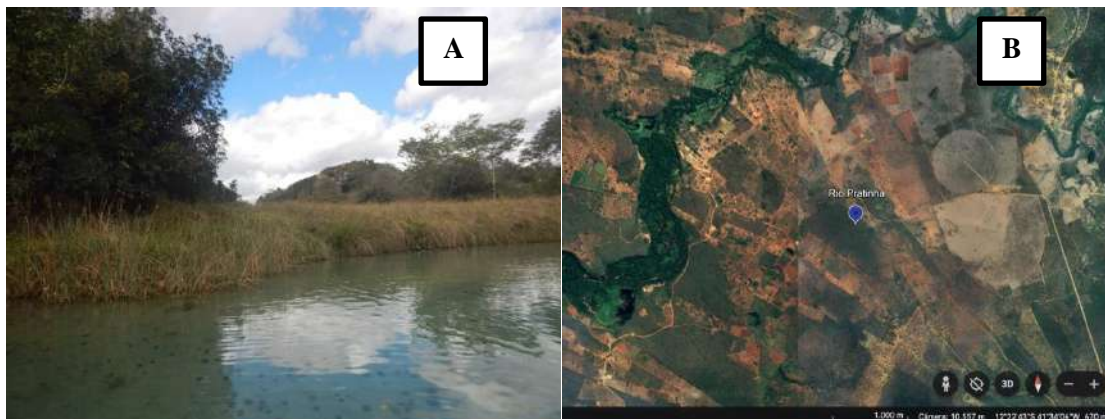


Figura 5 – Local de Coleta no Rio Pratinha. **A.** Foto do local de coleta (Imagem cedida por Carolina Neumann Keim). **B.** Imagem Satélite do ponto de coleta. Ponto de coleta do Rio Pratinha, município de Palmeiras, BA. Barra de escala: 3.000m (Imagem obtida do Google Earth).

4.1.2 Rio do Salto, Parque Estadual do Ibitipoca (MG)

Rio do Salto está localizado na Serra do Ibitipoca, sudoeste de Minas Gerais, dentro do Parque Estadual do Ibitipoca (PEI), uma unidade de conservação que foi criada em 1973 e está localizada nos municípios de Lima Duarte e Santa Rita de Ibitipoca, no estado de Minas Gerais. No contexto deste estudo, ele pode ser considerado um rio controle, pois é pouco afetado por atividades antrópicas, por estar localizado numa reserva ambiental.

Nessa região, a litologia predominante é o quartzito, uma rocha metamórfica composta de minerais associados com o quartzo (SiO_2). Os xistos ocorrem como rocha secundária. Os solos são, em geral, pobres em nutrientes e arenosos, ricos em quartzo, e contendo caulinita e micas. O estresse hídrico na estação seca tem grande influência sobre a vegetação, que inclui campos rupestres, campos de altitude, mata baixa e matas de galeria (Dias et al., 2002; Dias et al., 2003). O Rio do Salto drena áreas de carste com cavernas naturais, quedas d'água e praias fluviais (Bento et al., 2015). A água desse rio tem temperatura entre 13 e 22°C, condutividade entre 11,9 e 160 $\mu\text{S}/\text{cm}$, é oligotrófica (ortofosfato entre 1,4 e 11,0 $\mu\text{g}/\text{L}$) e naturalmente ácida (pH 4,2-5,5) (Canani et al., 2011). Há especulações que a acidez desse rio ocorre em consequência das características geológicas da bacia de drenagem (Bento et al., 2015; Dias et al., 2003). A maior parte dos solos da bacia de drenagem do Rio do Salto é pobre em ferro, com concentrações entre 0,04 e 4,47%, com predominância de fases amorfas e ligadas à matéria orgânica em relação à fração cristalina Fe_2O_3 e/ou FeOOH (Dias et al., 2003).



Figura 6 – Local de Coleta no Rio do Salto. **A.** Foto do local de coleta (Imagem cedida por Carolina Neumann Keim). **B.** Imagem Satélite do ponto de coleta no Parque Estadual de Ibitipoca, próximo ao distrito de Conceição do Ibitipoca, município de Lima Duarte (MG). Barra de escala: 3.000m (Imagem obtida do Google Earth).

4.1.3 Rio Tubarão, SC

A bacia hidrográfica do Rio Tubarão, SC intercepta parte da Bacia Carbonífera Sul Catarinense, e por isso recebe drenagem de minas de carvão, minério rico em pirita (FeS_2), incluindo drenado ácido de mina (Brandelero et al., 2016). Outras atividades econômicas que refletem na qualidade da água desta bacia hidrográfica são: agricultura, com o cultivo de lavouras temporárias e permanentes; pecuária; aquicultura; entre outros.

Em 2007, o pH da água do Rio Tubarão variou entre 3,0 e 7,5; a temperatura entre 15 e 24°C ; e o oxigênio dissolvido entre 17,5 e 25 mg.L^{-1} . As concentrações de Fe(dissolvido) na água chegaram a 90 mg.L^{-1} , as de Al(dissolvido) atingiram 40 mg.L^{-1} , tanto as de Mn(total) quanto a de Mn(dissolvido) em determinado ponto do rio ultrapassou 3 mg.L^{-1} , e as de Zn(total) a $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$. Nos sedimentos, o Fe chegou a 6% e o Al a 8% (Castilhos et al., 2010).

No presente trabalho, as amostras foram colhidas num ponto no município de Capivari de Baixo (SC), a jusante da área urbana da maior parte das cidades de Tubarão (SC) e Capivari de Baixo (SC). Tubarão tem população estimada em 110.088 pessoas (IBGE 2022). Cerca de 45,46% de seu esgoto gerenciado de forma adequada, por meio de sistemas centralizados de coleta e tratamento ou de soluções individuais. Do restante, 46,86% é coletado mas não é tratado, e 7,68% não é coletado, nem tratado (ANA 2013). Capivari de Baixo tem população estimada em 23.975 pessoas (IBGE 2022), e tem 66,6% de seu esgoto gerenciado de forma adequada, por meio de sistemas centralizados de coleta e tratamento ou de soluções individuais. Do restante, 31,14% é coletado mas não é tratado e 2,26% não é coletado, nem tratado (ANA 2013).

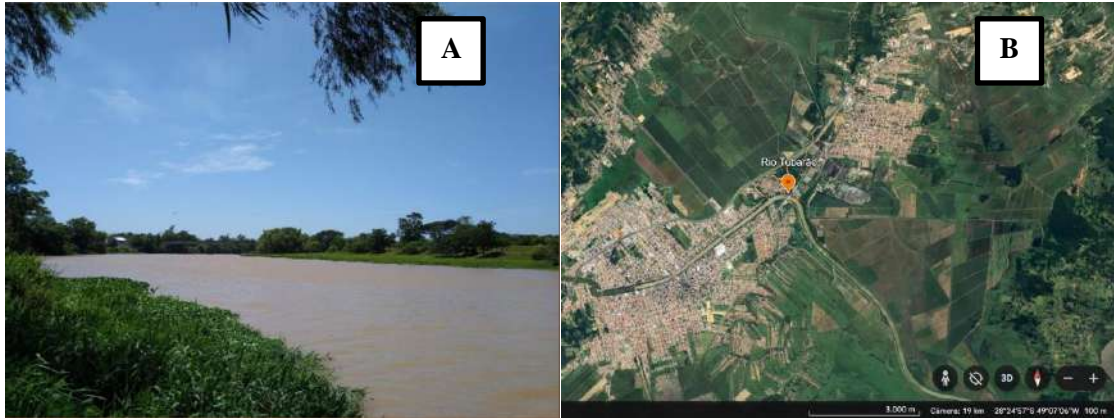


Figura 7 – Local de Coleta no Rio Tubarão. **A.** Foto do local de coleta (Imagem cedida por Carolina Neumann Keim). **B.** Imagem Satélite do ponto de coleta situado entre as cidades de Tubarão e Capivari de Baixo (SC). Barra de escala: 3.000m (Imagem obtida do Google Earth).

4.1.4 Rio Itambacuri, MG

O Rio Itambacuri nasce no município de Itambacuri, MG, e deságua no Rio Suaçuí Grande, no município de Jampruca (MG). Faz parte da Bacia do Rio Doce.

O Rio Itambacuri é periodicamente analisado pelo IGAM que avalia qualidades físico-químicas e hidrobiológicas. O Rio Itambacuri é impactado por atividades agropecuárias de seu entorno. Abastece a cidade de Itambacuri, sendo a maior parte das suas águas destinadas ao abastecimento, principalmente na estação seca. De acordo com os dados mais atuais, a cidade de Itambacuri possui 21.024 habitantes (IBGE 2022), mas parte da população não mora na área urbana, e, portanto, não tem impacto na água do rio.



Figura 8 – Local de Coleta no Rio Itambacuri. **A.** Foto do local de coleta (Imagem cedida por Carolina Neumann Keim). **B.** Imagem Satélite do ponto de coleta na cidade de Itambacuri (MG). Barra de escala: 1.000m (Imagem obtida do Google Earth).

4.1.5 Rio Doce, MG

A bacia hidrográfica do Rio Doce drena a porção leste do Quadrilátero Ferrífero, onde localizam-se as principais nascentes do Rio Doce. O Quadrilátero Ferrífero é uma região rica em minério de ferro e também de manganês e ouro. Em novembro de 2015 houve o rompimento da Barragem do Fundão, localizada em Mariana, MG, atingindo o Rio Doce. Esse acontecimento é considerado um dos maiores desastres ambientais do país. Além de vidas perdidas e construções destruídas, o evento provocou danos econômicos, sociais e ambientais gravíssimos. A ruptura da barragem levou ao extravasamento de rejeito de minério de ferro composto principalmente de óxidos de ferro (hematita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$; goetita $\alpha\text{-FeOOH}$; e magnetita $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$), quartzo (SiO_2), caulinita ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$), biotita ($\text{K}(\text{Mg},\text{Fe})_3\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$), gibsita ($\text{Al}(\text{OH})_3$) e ilita ($\text{K}_{0,65}\text{Al}_2[\text{Al}_{0,65}\text{Si}_{3,35}\text{O}_{10}](\text{OH})_2$), além de eteraminas utilizadas no processamento do minério (Queiroz et al., 2018; Santos et al., 2019; Valeriano et al., 2019). A lama percorreu mais de 600km de rios chegando à foz no Oceano Atlântico, levando à morte animais e macrófitas aquáticas, impedindo o abastecimento público, atividades industriais e agropecuárias (Carmo et al., 2017).

O Rio Doce também é impactado pelo lançamento de esgotos não tratados: contando somente os habitantes que contam com coleta de esgotos em áreas urbanas com mais de 50 mil habitantes na Bacia do Rio Doce (ANA, 2015. Encarte Especial sobre a Bacia do Rio Doce: Rompimento da Barragem em Mariana/MG), temos que o esgoto de mais de um milhão de pessoas é lançado *in natura* no Rio Doce e afluentes. A maior cidade do Vale do Rio Doce, Governador Valadares, com cerca de 257.000 habitantes, possui 0,73% de seu esgoto manejado de forma adequada, por meio de soluções individuais. Do restante, 95,37% é coletado mas não é tratado e 3,9% não é coletado nem tratado (ANA 2013).



Figura 9 – Local de Coleta no Rio Doce. **A.** Foto do local de coleta (Imagem cedida por Carolina Neumann Keim). **B.** Imagem Satélite do ponto de coleta em Governador Valadares, MG. Barra de escala: 3.000m (Imagem obtida do Google Earth).

4.1.6 Córrego Cachoeira Grande, RJ

O Córrego Cachoeira Grande é cercado da vegetação de mata atlântica e possui rica biodiversidade tanto da fauna quanto da flora. É utilizado como fonte de água para abastecimento público da vila de Trindade (Paraty, RJ). Justamente por ser um corpo d'água pequeno quando comparado aos outros do estudo e estar numa unidade de conservação, buscamos observá-lo como um ambiente controle. O córrego em questão é pouco impactado por atividades antrópicas, pois fica localizado dentro do Parque Nacional da Serra da Bocaina, município de Paraty (RJ).



Figura 10 – Local de Coleta no Córrego Cachoeira Grande. **A.** Foto do local de coleta (Imagem cedida por Carolina Neumann Keim). **B.** Imagem de satélite do ponto de coleta próximo à vila de Trindade, Paraty (RJ). Barra de escala: 800m (Imagem obtida do Google Earth).

4.2 Coleta de amostras

Amostras de água e sedimentos de fundo foram coletados em seis rios: Rio Pratinha, Palmeiras, BA (GPS -12.353229, -41.541081) em 20-07-2023; Rio do Salto, Parque Estadual do Ibitipoca, Lima Duarte, MG (GPS -21.709472, -43.893808) em 19-06-2022; Rio Tubarão, Capivari de Baixo, SC (GPS -28.461318, -48.978562), em 20-01-2022; Rio Itambacuri, Itambacuri, MG (GPS -18.027309, -41.667482), em 28-02-2022; Rio Doce, MG (GPS -18.915528, -41.995869), em 30-07-2023; e Córrego Cachoeira Grande, RJ (GPS -23.351280, -44.727795), em 07-04-2023.

A localização dos pontos de coleta está indicada nas imagens de satélite (Figuras 5-11). Todas as amostras de sedimentos foram coletadas com frascos de plástico de 0,5 a 1 kg, e as de água foram coletadas com garrafas plásticas de 1,5L e conservadas em temperatura ambiente até a chegada no Laboratório de Geomicrobiologia, UFRJ. Amostras adicionais de água foram filtradas logo após a coleta em filtro de 0,45mm, sendo imediatamente acidificadas em HCl na

concentração final de 1mol/L e mantidas em tubos plásticos de 50 mL. Durante a coleta foi verificada a temperatura da água. No laboratório, foi medido o pH da água, e posteriormente foi iniciada a construção dos microcosmos.

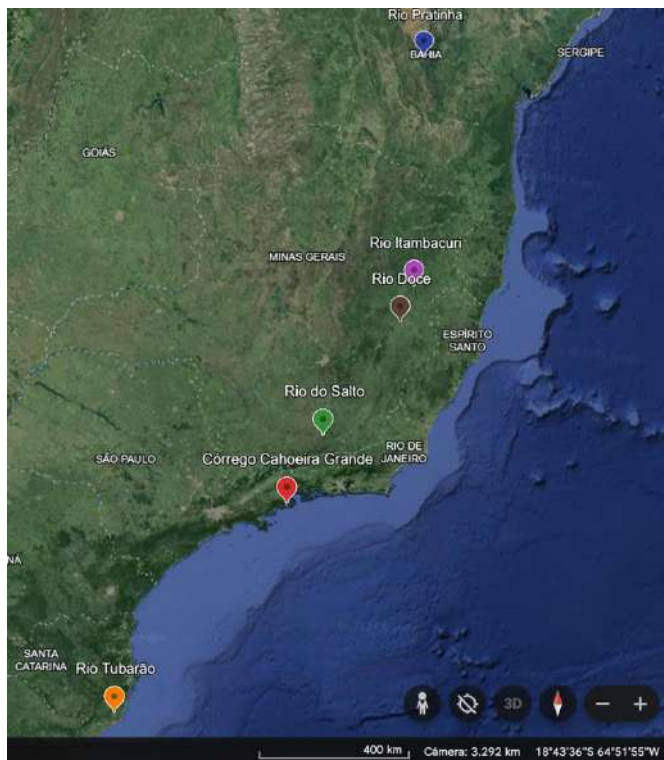


Figura 11 - Relação dos pontos de coleta dos seis rios no mapa do Brasil. (Imagem obtida do Google Earth)

4.3 Caracterização dos sedimentos

4.3.1 Peso seco x peso úmido

Amostras de sedimentos úmidos de cada rio (30 mL de sedimentos úmidos) foram separadas em béqueres de vidro e pesadas. Eles foram mantidos na estufa a 53°C para que a água fosse evaporada por cerca de duas semanas. As amostras foram consideradas secas quando após pesagens regulares seu peso continuasse estável. O peso foi anotado e as amostras mantidas em frascos plásticos.

4.3.2 Microscopia ótica

O seguinte protocolo foi seguido para a obtenção das imagens dos sedimentos de cada ambiente: secagem em estufa a 53°C até peso constante, homogeneização dos sedimentos para evitar seleção quanto ao tamanho dos grãos e dispersão dos sedimentos secos em lâmina de vidro. Com o auxílio de uma espátula, os sedimentos foram espalhados para evitar ao máximo a sobreposição dos grãos.

Para caracterizar e medir o tamanho dos grãos no sedimento, foi usado um microscópio estereoscópico Nikon AZ1000 equipado com uma câmera Digital Sight DS-Ri1 (Nikon) para obtenção de imagens de reflexão, e microscópio óptico Axioplan (Zeiss) equipado com câmera Evolution MP 5.0 (Media Cybernetics) para a microscopia ótica de campo claro e de polarização. Baseado no protocolo proposto por Guilherme et al. (2015), foram utilizadas imagens obtidas no microscópio estereoscópico para medição de comprimento e largura dos grãos de sedimentos utilizando o programa de domínio público ImageJ. Foi calculado o fator de forma (largura/comprimento) utilizando o software Microsoft Excel. Foram analisados 100 grãos de sedimentos dos rios Itambacuri e Pratinha; 96 do Rio do Salto; 95 do Rio Doce; e 90 do Córrego Cachoeira Grande. Não foi possível medir os grãos do Rio Tubarão utilizando este método por causa do elevado grau de agregação e tamanho reduzido dos grãos.

4.4 Construção de Microcosmos

Para avaliar a redução do ferro, foram construídos microcosmos com água e sedimentos de rio enriquecidos com diferentes fontes de carbono, em frascos estéreis, e incubados no escuro a 25°C por até 35 dias.

4.4.1 Experimentos curtos

Foram construídos microcosmos com água e sedimentos do rio correspondente, em tubos de vidro de 9 mL com tampa de rosca. As fontes de carbono foram dissolvidas na água do rio antes da construção dos microcosmos. Foram utilizados: acetato de sódio nas concentrações 6,8 e 34 g/L, extrato de levedura nas concentrações 4 e 20 g/L, e glicose nas concentrações 3 e 15 g/L. Como controle vivo, não foi adicionado nenhuma fonte de carbono, só água e sedimentos do rio. Já o controle estéril foi montado com água e sedimentos do rio e enriquecido com glicose 15g/L, contudo, antes da montagem tanto os sedimentos quanto a água enriquecida foram autoclavados. A Tabela 1 contém um resumo dos experimentos curtos.

A cada 7 dias, 6 tubos de cada tratamento foram separados, e 1,35 mL da fase líquida de cada tubo foi acidificado com 0,15 mL de HCl 10 mol/L, resultando na concentração final de HCl de 1 mol/L. O restante da fase líquida foi utilizado para medição do pH utilizando pHmetro de bancada ou, no caso do Rio Tubarão, fita de pH 0-14 (Merck). Em seguida, os microcosmos foram descartados. Para o tempo 0, foi considerada a concentração de Fe(II) medida na água do rio.

4.4.2 Experimentos longos

Para o experimento longo, foram construídos microcosmos em frascos de penicilina de 100 mL, em triplicata. Em cada microcosmo, foram utilizados cerca de 30 mL de sedimentos úmidos e 70 mL de água do rio. Além do controle vivo, sem adição de matéria orgânica, foram feitos microcosmos com acetato de sódio 34 g/L ou glicose 15 g/L, dissolvidos na água. Nesse experimento, os frascos foram mantidos por vários meses. De 14 em 14 dias, exceto Córrego Cachoeira Grande (7 em 7 dias), foram retiradas alíquotas de 20 mL da fase líquida do frasco, sendo 1,35 mL acidificado em 0,15 mL de HCl 10 Mol/L, e a outra parte utilizada para medir o pH em pHmetro de bancada. Logo após a retirada, foram adicionados 20 mL de solução de água do rio mais a fonte de carbono do microcosmo em questão, sendo que, nos controles vivos, houve adição somente da água do rio. A Tabela 2 sumariza os experimentos longos. Do mesmo modo que nos experimentos curtos, para o tempo 0 foi utilizada a medida da concentração de Fe(II) da água dos rios.

Tabela 1 – Desenho experimental dos experimentos curtos.

Origem das amostras de água e sedimentos	Fonte de carbono adicionada	Concentração (g/L)	Pré tratamento	Quantificações
Rio Pratinha, BA	Glicose	15	autoclavação	
	Nenhuma	-	-	
	Acetato de sódio	6,8	-	Fe(II) e pH medidos em 7, 14, 21, 28 e 35 dias.
	Acetato de sódio	34	-	
	Extrato de levedura	4	-	
	Extrato de levedura	20	-	
	Glicose	3	-	
Glicose	15	-		
Rio do Salto, MG	Glicose	15	autoclavação	
	Nenhuma	-	-	
	Acetato de sódio	6,8	-	Fe(II) e pH medidas em 7, 14, 21 e 28 dias.
	Acetato de sódio	34	-	
	Extrato de levedura	4	-	
	Extrato de levedura	20	-	
	Glicose	3	-	
Glicose	15	-		
Rio Tubarão, SC	Glicose	15	autoclavação	
	Nenhuma	-	-	
	Extrato de levedura	4	-	Fe(II) e pH medidas em 7, 14, 21 e 28 dias.
	Extrato de levedura	20	-	
	Glicose	3	-	
Glicose	15	-		
Rio Itambacuri, MG	Glicose	15	autoclavação	
	Nenhuma	-	-	
	Acetato de sódio	6,8	-	Fe(II) e pH medidas em 7, 14, 21 e 28 dias.
	Acetato de sódio	34	-	
	Extrato de levedura	4	-	
	Extrato de levedura	20	-	
	Glicose	3	-	
Glicose	15	-		
Rio Doce, MG	Glicose	15	autoclavação	
	Nenhuma	-	-	
	Acetato de sódio	6,8	-	Fe(II) e pH medidas em 7, 14, 21 e 28 dias.
	Acetato de sódio	34	-	
	Extrato de levedura	4	-	
	Extrato de levedura	20	-	
	Glicose	3	-	
Glicose	15	-		
Córrego Cachoeira Grande, RJ	Glicose	15	autoclavação	
	Nenhuma	-	-	
	Acetato de sódio	6,8	-	Fe(II) e pH medidas em 7, 14, 21 e 28 dias.
	Acetato de sódio	34	-	
	Extrato de levedura	4	-	
	Extrato de levedura	20	-	
	Glicose	3	-	
Glicose	15	-		

Tabela 2 – Desenho experimental dos experimentos longos.

Origem das amostras	Fonte de carbono adicionada (g/L)	Sedimento		Água (mL)	Quantificações
		úmido	Seco (g)		
Rio Pratinha, MG	Nenhuma	30 mL		70	Fe (II) e pH, medidos de 14 em 14 dias por 155 dias
	Glicose 15	5,4 g	26,8		
Rio do Salto, MG	Nenhuma			80	Fe (II) e pH, medidos de 14 em 14 dias por 178 dias
	Acetato de sódio 34	50 g	39,9		
	Glicose 15				
Rio Tubarão, SC	Nenhuma			90	Fe (II) e pH, medidos de 14 em 14 dias por 35 dias (extrato de levedura) ou 258 dias (controle e glicose)
	Acetato de sódio 34	10 mL	5,5		
	Extrato de levedura 20	13,1 g			
Rio Itambacuri, MG	Glicose 15	ND	ND	ND	Fe (II) e pH, medidos de 14 em 14 dias durante 485 dias
	Nenhuma	30 mL	29,5	70	Fe (II) e pH, medidos de 14 em 14 dias por 155 dias
Rio Doce, MG	Glicose 15	48,4 g			
	Nenhuma	30 mL	40,0	80	Fe (II) e pH, medidos de 7 em 7 dias por 96 dias
Córrego Cachoeira Grande, RJ	Acetato de sódio 34	54,2 g			
	Glicose 15				

ND, não determinado.

4.5 Quantificação de Fe(II) por espectrofotometria, pelo método na Ferrozina

As alíquotas da fase líquida acidificadas dos microcosmos foram submetidas a um protocolo de quantificação das concentrações de Fe(II) pelo método da Ferrozina, segundo Viollier et al. (2000) e incorporando as modificações introduzidas por Keim et al. (2021).

Foram preparadas as soluções:

- A. Ferrozina a 4,92 g/L e de acetato de amônio 7,7 g/L em água destilada.
- B. Tampão acetato de amônio a 5 mol/L, pH ajustado com hidróxido de amônio para 9,0-9,5, em água destilada.

Utilizamos tubos de ensaio de vidro, onde adicionamos 200 µL de solução de ferrozina (solução A), 1 ml de amostra (alíquota acidificada em HCL 1 mol/L), 500 µL de tampão acetato de amônio (solução B), e por fim, 300 µL de água destilada para acertar o volume para 2 mL.

Para a construção da curva-padrão, as amostras foram substituídas por soluções de FeSO₄ nas concentrações de 5, 10, 50, 100, 180 e 200 µmol/L em HCl 1 mol/L. O branco foi preparado

substituindo a amostra por HCl 1 mol/L. O espectrofotômetro foi calibrado utilizando água destilada como referência. As absorvâncias dos padrões e das amostras foram medidas a 562 nm.

4.6 Cálculos, análise estatística e elaboração de gráficos

Todos os cálculos foram conduzidos utilizando o software Excel (Microsoft). Foram calculados a média, o desvio padrão e aplicado o teste *t* de Student para a avaliação estatística. Todos os gráficos foram feitos utilizando o software gratuito SciDaVis (SourceForge).

5 Resultados

5.1 Caracterização da água e sedimentos dos rios estudados

A temperatura e o pH da água dos rios estudados estão dispostos na Tabela 3. No Rio do Salto, o pH medido foi 5,1, fora do intervalo estabelecidos na norma vigente para águas superficiais, que é 6 a 9 (Resolução CONAMA 357, 2005). Nos outros rios, o pH encontra-se dentro do intervalo (Tabela 3).

Tabela 3 - Temperatura e pH da água de cada ambiente durante a coleta.

Ambiente	Rio Pratinha, BA	Rio do Salto, MG	Rio Tubarão, SC	Rio Itambacuri, MG	Rio Doce, MG	Córrego Cachoeira Grande, RJ
Temperatura	24°C	ND	27°C	ND	23°C	20-22°C
pH	7,3	5,1	6,5	7,7	7,6	8,0

ND, não determinado

Ao microscópio estereoscópico, os sedimentos mostraram-se bastante diversos entre si, tanto em relação ao tamanho de grão, quanto à cor, à morfologia, e à diversidade de minerais (Figura 12). Nas figuras 13 e 14 observamos micrografias óticas de campo claro e de polarização.

A partir das imagens obtidas no microscópio estereoscópico, (figura 12), foi medido o comprimento e largura dos grãos de sedimentos de cada ambiente, exceto do Rio Tubarão. Estes sedimentos apresentavam tanto grãos médios quanto muitos grãos pequenos, a maioria muito inferior a 20µm, bastante aglomerados entre si.

Nas imagens presentes nas figuras 13-14 é possível observar não somente as diferenças relacionadas ao tamanho, mas também as relacionadas a diversidade de formas, angulação dos grãos, e cores que os minerais presentes nos sedimentos presentes podem apresentar. Por exemplo, no Rio do Salto, os sedimentos são muito claros e de aspecto cristalino, o que sugere

baixa concentração de ferro, ao contrário dos rios Doce e Itambacuri, com colorações tendendo ao marrom. Solos e sedimentos ricos em ferro apresentam grãos com cores amareladas, avermelhadas ou amarronzadas, devido a presença de ferrihidrita, goetita e/ou hematita.

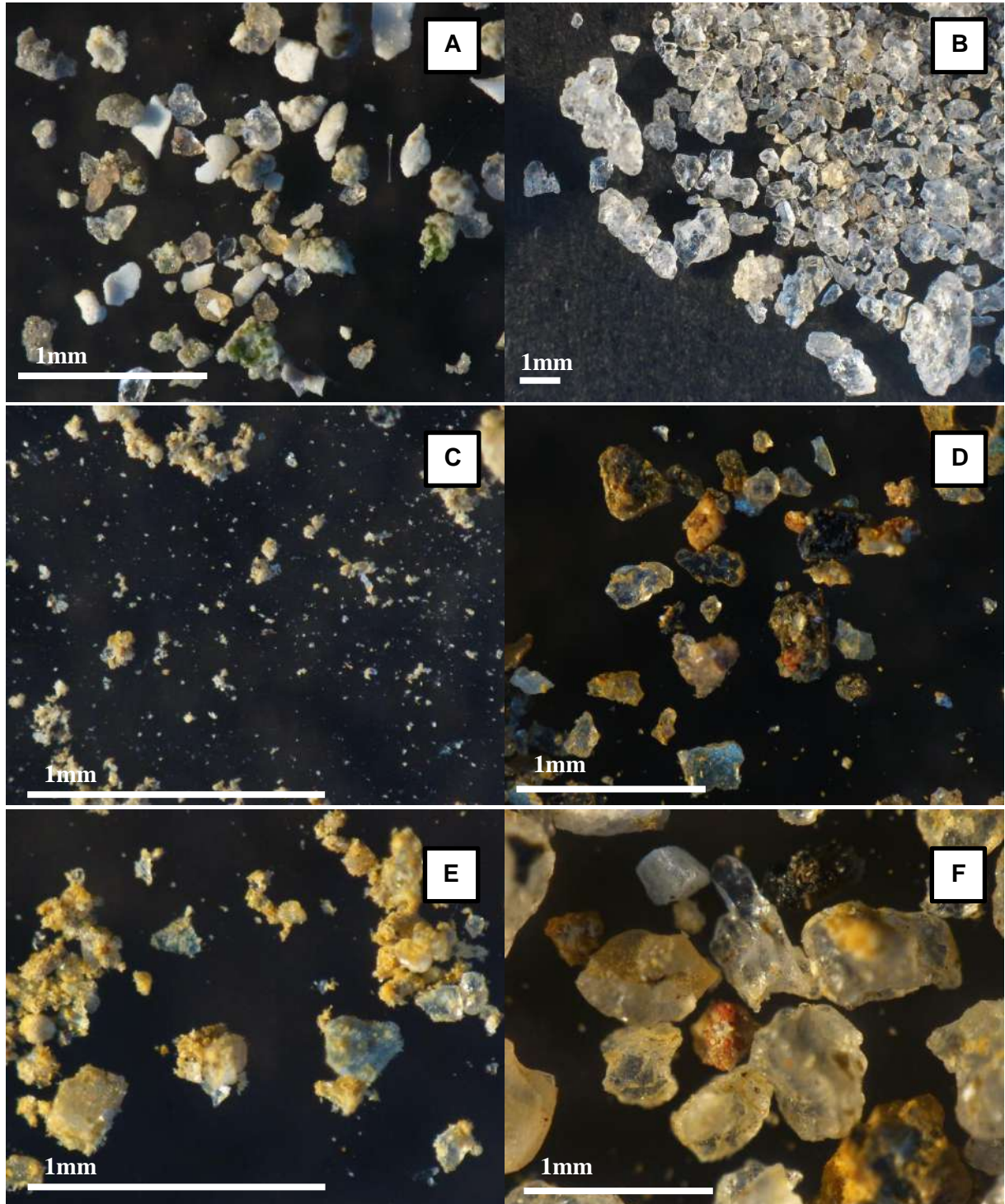


Figura 12: Imagens dos sedimentos de cada ambiente, observado através de microscópio estereoscópico. **A.** Rio Pratinha. **B.** Rio do Salto. **C.** Rio Tubarão. **D.** Rio Itambacuri. **E.** Rio Doce. **F.** Córrego Cachoeira Grande.

Medidas de largura dos grãos de sedimentos a partir das imagens obtidas em microscópio estereoscópico foram utilizadas para classificar os sedimentos por tamanho segundo Friedman

e Sanders (1978). No Rio do Salto, houve predominância de areia grossa, enquanto no Córrego Cachoeira Grande houve predominância de areia grossa e média, e nos rios Pratinha, Doce e Itambacuri houve predominância de areia muito fina (Tabela 4).

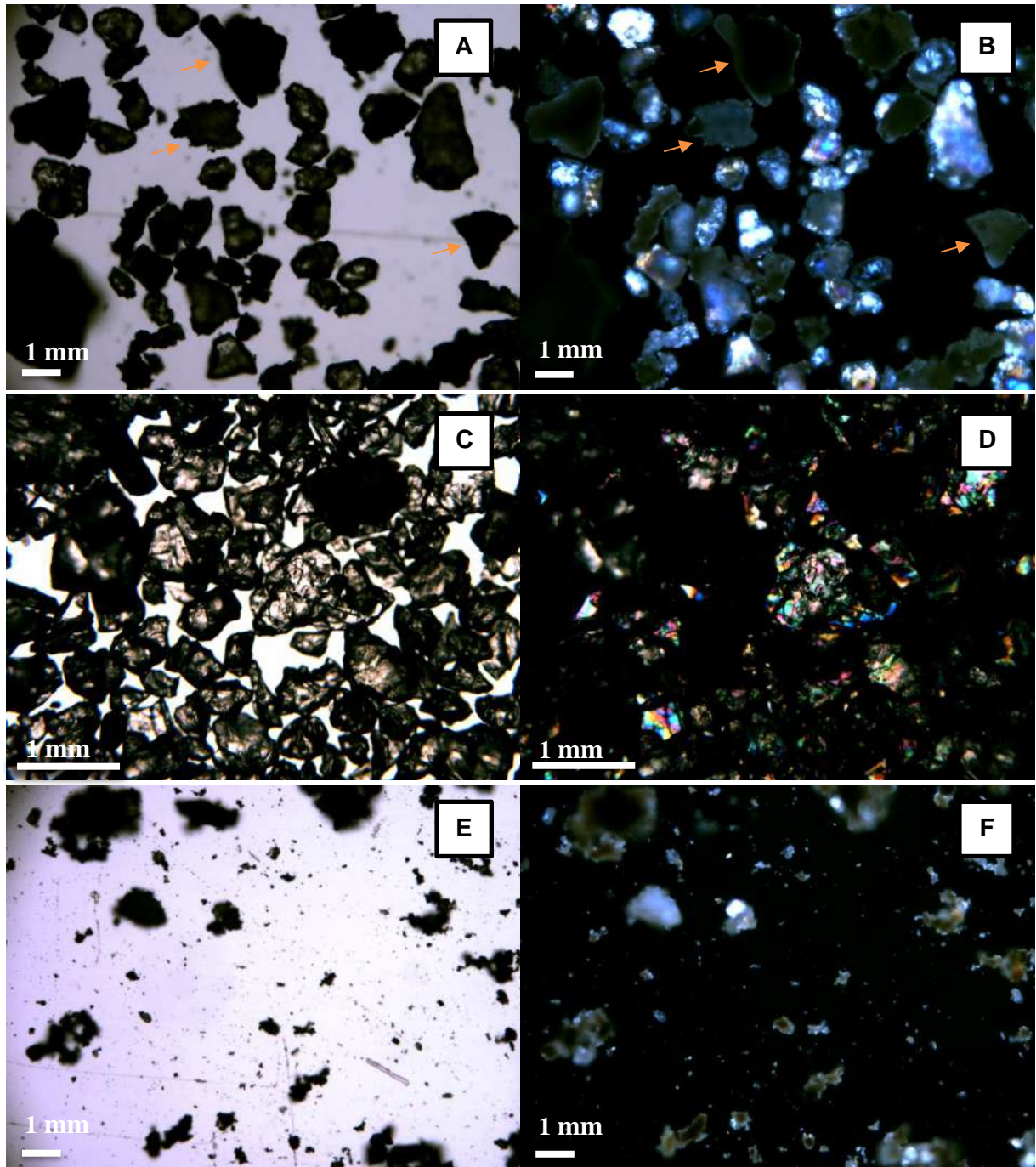


Figura 13: Micrografias óticas dos sedimentos do Rio Pratinha (A-B), Rio do Salto (C-D), e Rio Tubarão (E-F). (A, C, E) Microscopia de campo claro. (B, D, F) Microscopia de polarização.

A Figura 15 mostra a distribuição da largura dos grãos de sedimentos dos rios estudados. No Rio Pratinha, foram observados grãos com 108 ± 49 mm (média \pm desvio padrão). O Rio do Salto possui o maior tamanho médio, com 796 ± 493 mm. No Rio Itambacuri, os grãos mediram em média 116 ± 68 mm, enquanto no Rio Doce os grãos mediam 90 ± 49 mm, e no

Córrego Cachoeira Grande 491 ± 251 mm. Não foi possível medir número suficiente de grãos de sedimentos do Rio Tubarão por conta do elevado grau de agregação, mas certamente eram os menores dentre os ambientes estudados. A maioria dos sedimentos mostra uma distribuição de largura aproximadamente log-normal, com exceção do Rio do Salto, que não mostrou uma tendência clara (Figura 15).

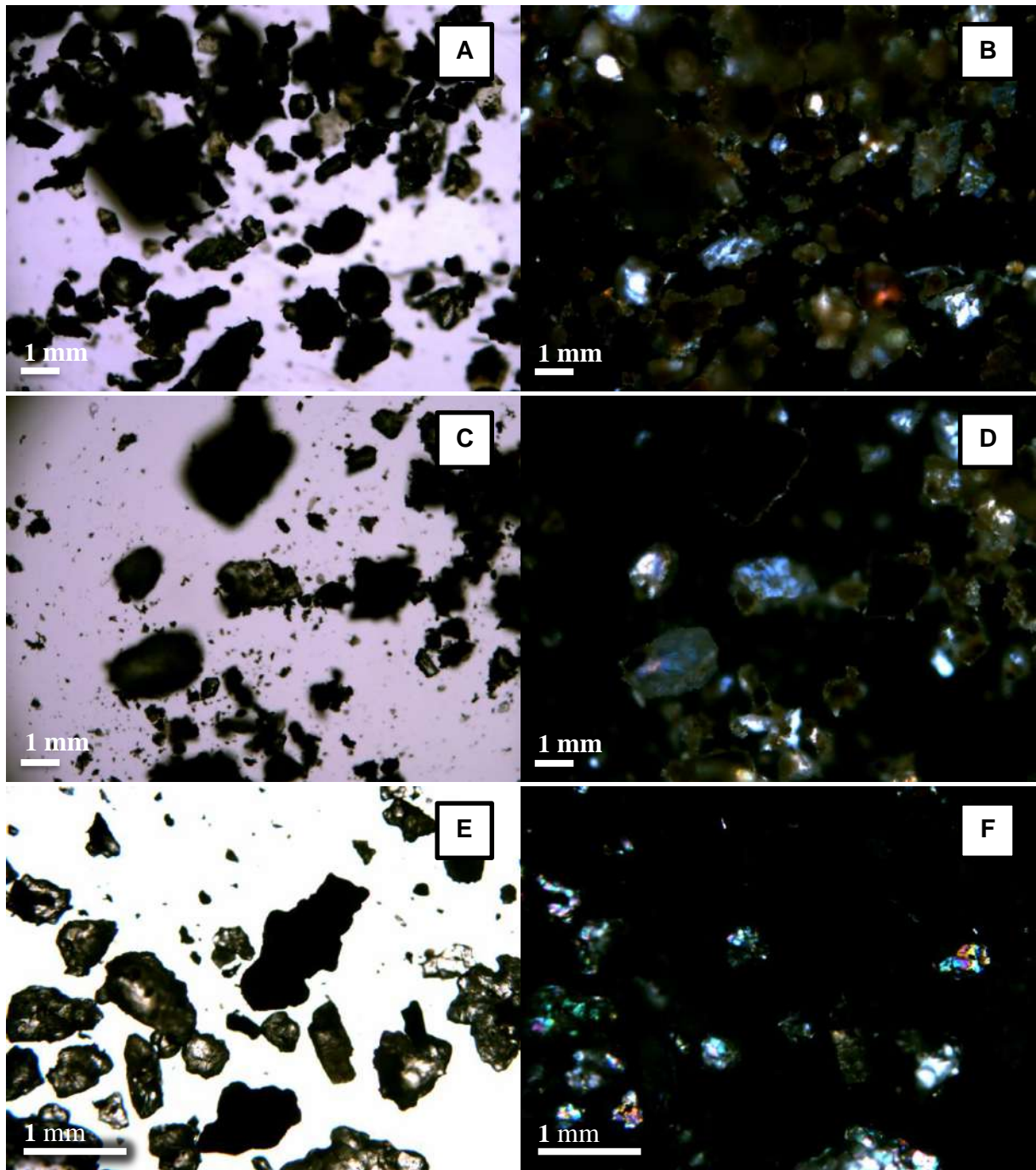


Figura 14: Micrografias óticas dos sedimentos (continuação). Rio Itambacuri (A-B), Rio Doce (C-D), e Córrego Cachoeira Grande (E-F). (A, C, E) Microscopia de campo claro. (B, D, F) Microscopia de polarização.

O fator de forma (largura/comprimento) é uma maneira de mostrar a esfericidade dos objetos de forma numérica. A distribuição do fator de forma dos grãos de sedimentos está

ilustrada na Figura 16. Os valores médios obtidos para o fator de forma foram muito similares em todos os rios: $0,75 \pm 0,16$ para o Rio Pratinha (média \pm desvio padrão); $0,70 \pm 0,15$ para o Rio do Salto; $0,71 \pm 0,17$ para o Rio Itambacuri; $0,75 \pm 0,17$ para o Rio Doce; e $0,74 \pm 0,16$ para o Córrego Cachoeira Grande.

Tabela 4 – Distribuição dos grãos de sedimentos de acordo com o tamanho. Baseado na classificação de Friedman e Sanders (1978).

Classificação			Porcentagem da distribuição do tamanho de grãos em cada rio				
Tipo	Espessura	intervalo (mm)	PR	SAL	ITA	DC	CCG
Areia	muito grossa	>1000	0	26,0	0	0	4,4
	grossa	999-500	0	40,6	0	0	37,8
	média	499-250	2,0	30,2	5,0	1,1	36,7
	fina	249-125	21,0	2,1	30,0	18,8	11,1
	muito fina	124-63	64,0	0	46,0	46,9	6,7
Silte	muito grosso	62-31	13,0	0	15,0	28,1	0
	grosso	30-16	0	0	4,0	4,2	0
	médio	15-8	0	0	0	0	0
Total de grãos:			100	96	100	95	90

PR, Rio Pratinha; SAL, Rio do Salto; ITA, Rio Itambacuri; DC, Rio Doce; CCG, Córrego Cachoeira Grande.

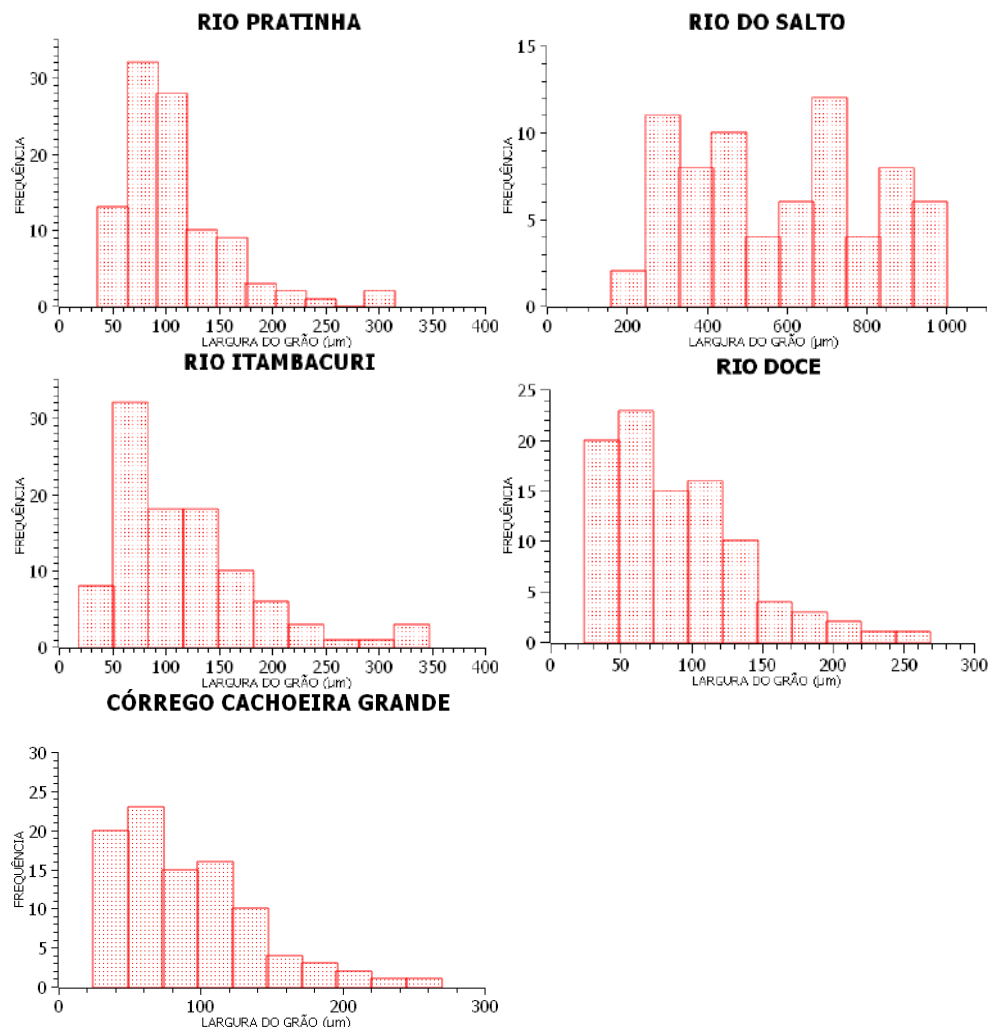


Figura 15 – Largura dos grãos de sedimentos

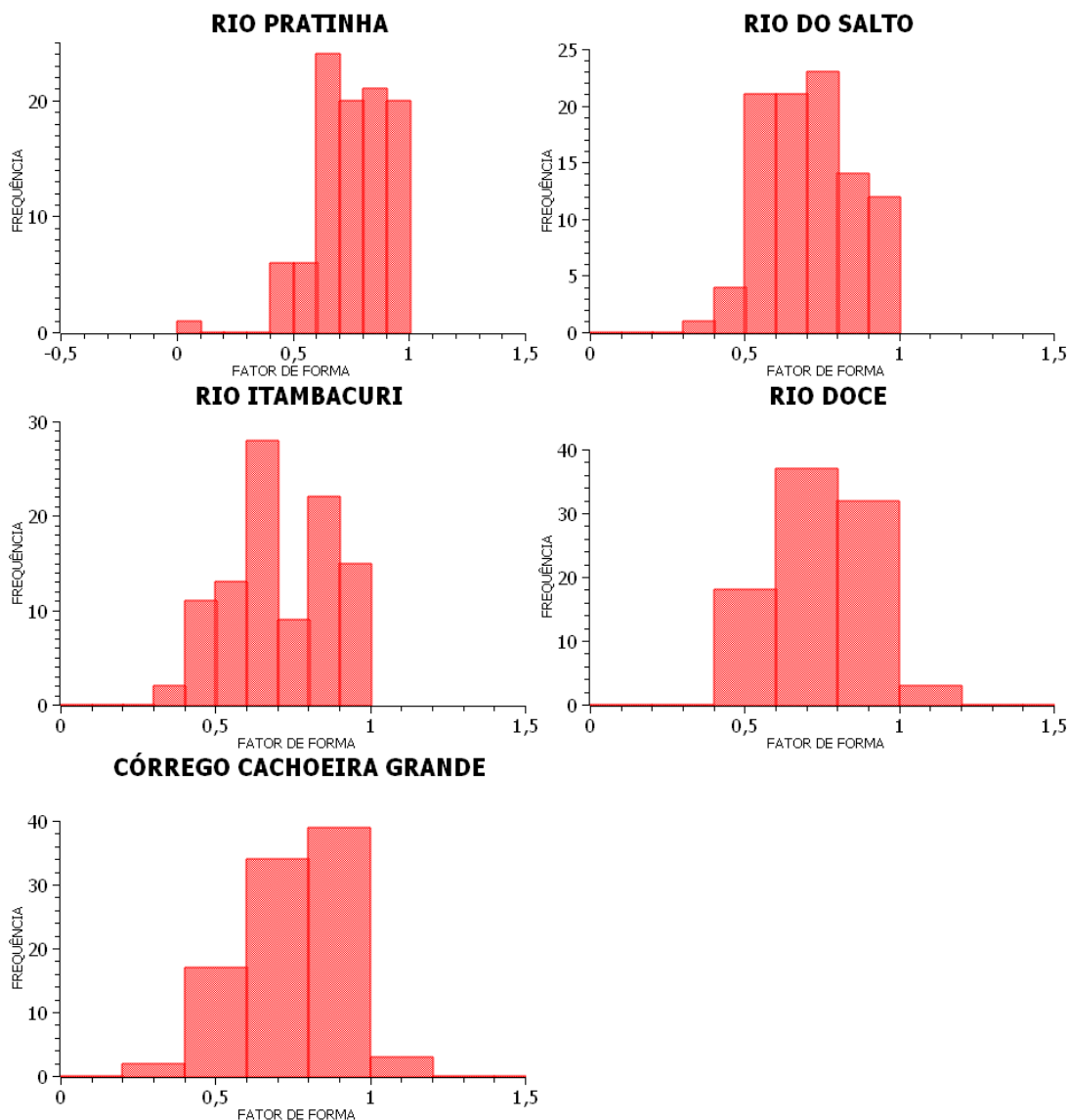


Figura 16 – Fator de forma dos grãos sedimentares

5.2 Quantificação de ferro ferroso dissolvido no experimento curto

As figuras 17 a 22 mostram a evolução das concentrações de Fe(II) ao longo do tempo nos microcosmos do experimento curto. Os microcosmos contendo acetato de sódio, glicose e os controles vivos mostraram aumento nas concentrações de Fe(II) ao longo do tempo, enquanto os microcosmos com extrato de levedura mostraram aumento seguido de estabilidade e se mostraram mais variáveis. Já nos controles autoclavados, as concentrações de Fe(II) permaneceram estáveis, o que sugere que houve mobilização de pequenas quantidades de Fe(II) no processo de autoclavagem e que essas quantidades foram mantidas durante todo o tempo de incubação, mas essa mobilização é notavelmente menor do que a redução biológica. O comportamento diferenciado das concentrações de Fe(II) entre os microcosmos com

microrganismos vivos e estéreis demonstra o papel dos microrganismos vivos na dissolução redutiva de Fe(II).

Foi observado efeito dose-dependente nos microcosmos de glicose e extrato de levedura, o que demonstra a importância do substrato para a atividade metabólica dos microrganismos redutores. No entanto, suspeita-se de toxicidade nos microcosmos de acetato de sódio 34 g/L, uma vez que frequentemente os microrganismos apresentaram maior atividade redutora nas concentrações mais baixas.

Abordando de maneira mais específica a redução de ferro em cada ambiente lótico, nos microcosmos do Rio Pratinha (figura 17), em todas os casos exceto nos microcosmos suplementados com glicose, as concentrações de Fe(II) se mantiveram estáveis a partir de 7 dias mas com tendência de aumento. Nos microcosmos suplementados com glicose 3 g/L e 15 g/L, é possível observar que as concentrações de Fe(II) continuam aumentando além dos 7 dias (Figura 17). O teste *t* de Student mostrou diferenças significativas entre microcosmos controles e experimentais para microcosmos com extrato de levedura e glicose, mas não nos microcosmos com acetato (Tabela 5).

Nos microcosmos do Rio do Salto (figura 18), observamos que as concentrações de Fe(II) aumentaram até os 21 dias, e foram similares nos microcosmos controle vivo e com adição de acetato. Nos microcosmos com extrato de levedura a 4g/L, as concentrações de Fe(II) aumentaram com o tempo, porém naqueles com extrato de levedura a 20g/L, a concentração máxima de Fe(II) ocorreu aos 7 dias, seguido por leve tendência de queda. Nos microcosmos com glicose, as concentrações de Fe(II) aumentaram com o tempo, até os 28 dias. O teste *t* de Student mostrou diferenças significativas entre o controle autoclavado e todos os microcosmos com microrganismos vivos. Além disso, não apontou diferenças significativas entre o controle vivo e microcosmos com acetato, nem entre as duas concentrações de extrato de levedura (Tabela 5). Nos demais casos, as diferenças foram significativas, com destaque para os microcosmos com glicose, com os menores valores de *p*.

A figura 19 expõe os gráficos correspondentes aos microcosmos do Rio Tubarão, No controle vivo, é notável a tendência ao crescimento da concentração de Fe(II) entre o primeiro e o último dia (Figura 19). Nos gráficos de extrato de levedura, houve uma dispersão muito grande, especialmente naqueles com 20 g/L (Figura 19). O teste *t* indicou diferenças significativas das concentrações de Fe(II) entre microcosmos com extrato de levedura 4 g/L e os controles, e entre microcosmos com extrato de levedura 20 g/L e com glicose 15 g/L (Tabela 5). Já nos microcosmos com glicose, a dispersão é menor e é possível notar crescimento com o

passar do tempo (Figura 19). Diferenças significativas foram observadas para os microcosmos com glicose 15g/L em todos os casos exceto extrato de leveduras 4 g/L, e também entre os dois controles (Tabela 5).

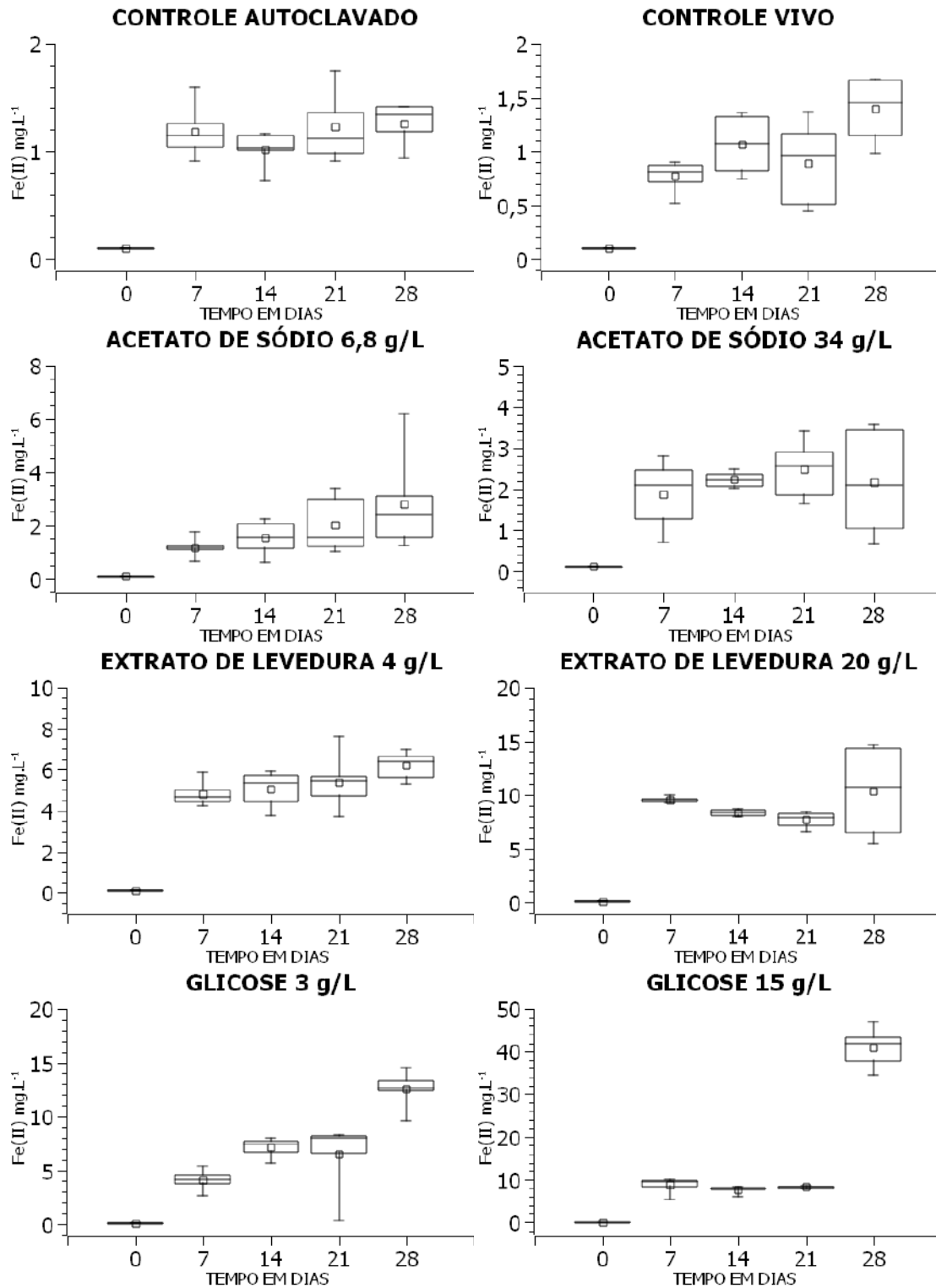


Figura 17 - Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Pratinha. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado mostra a média.

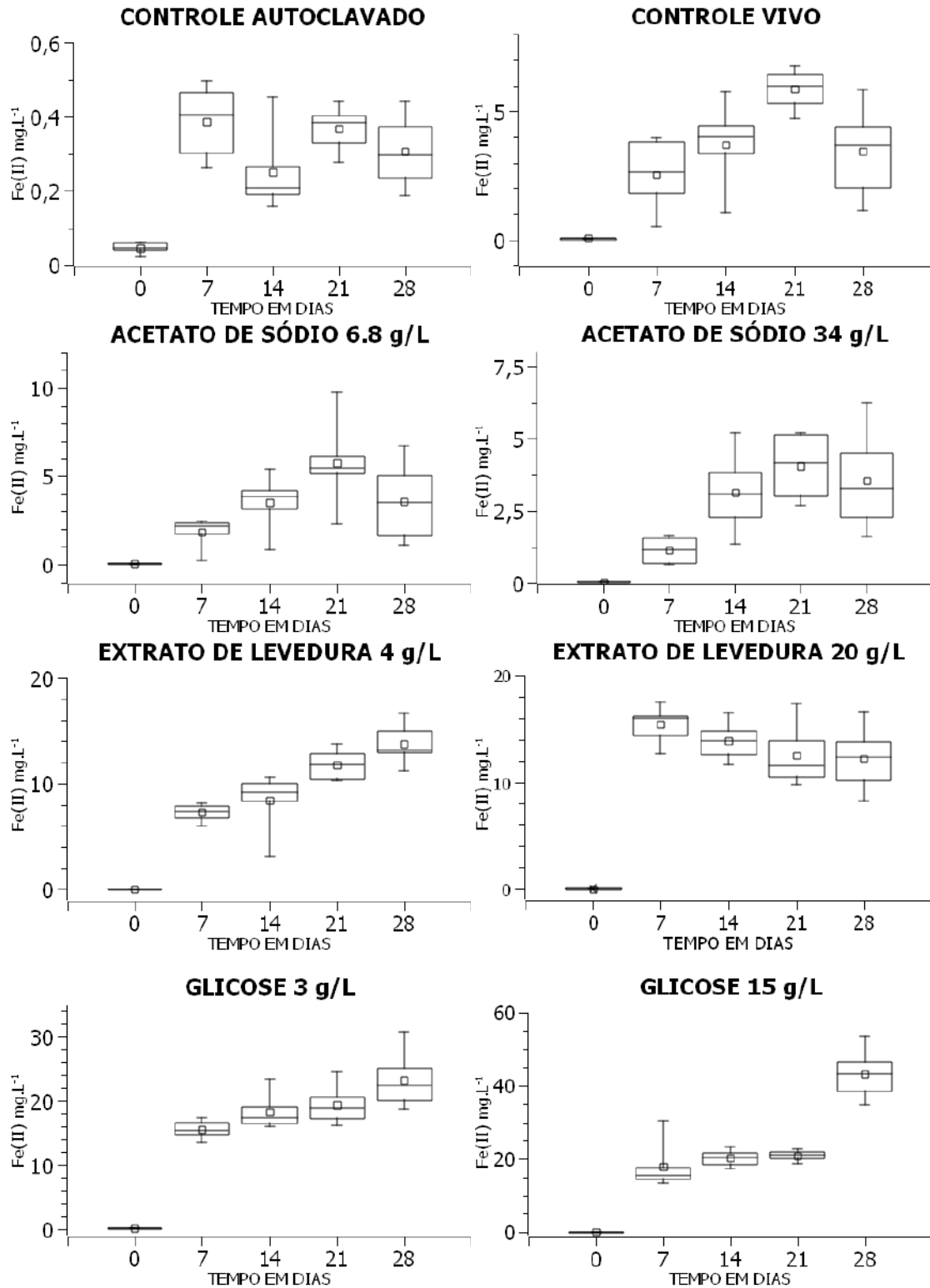


Figura 18 - Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio do Salto. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado mostra a média.

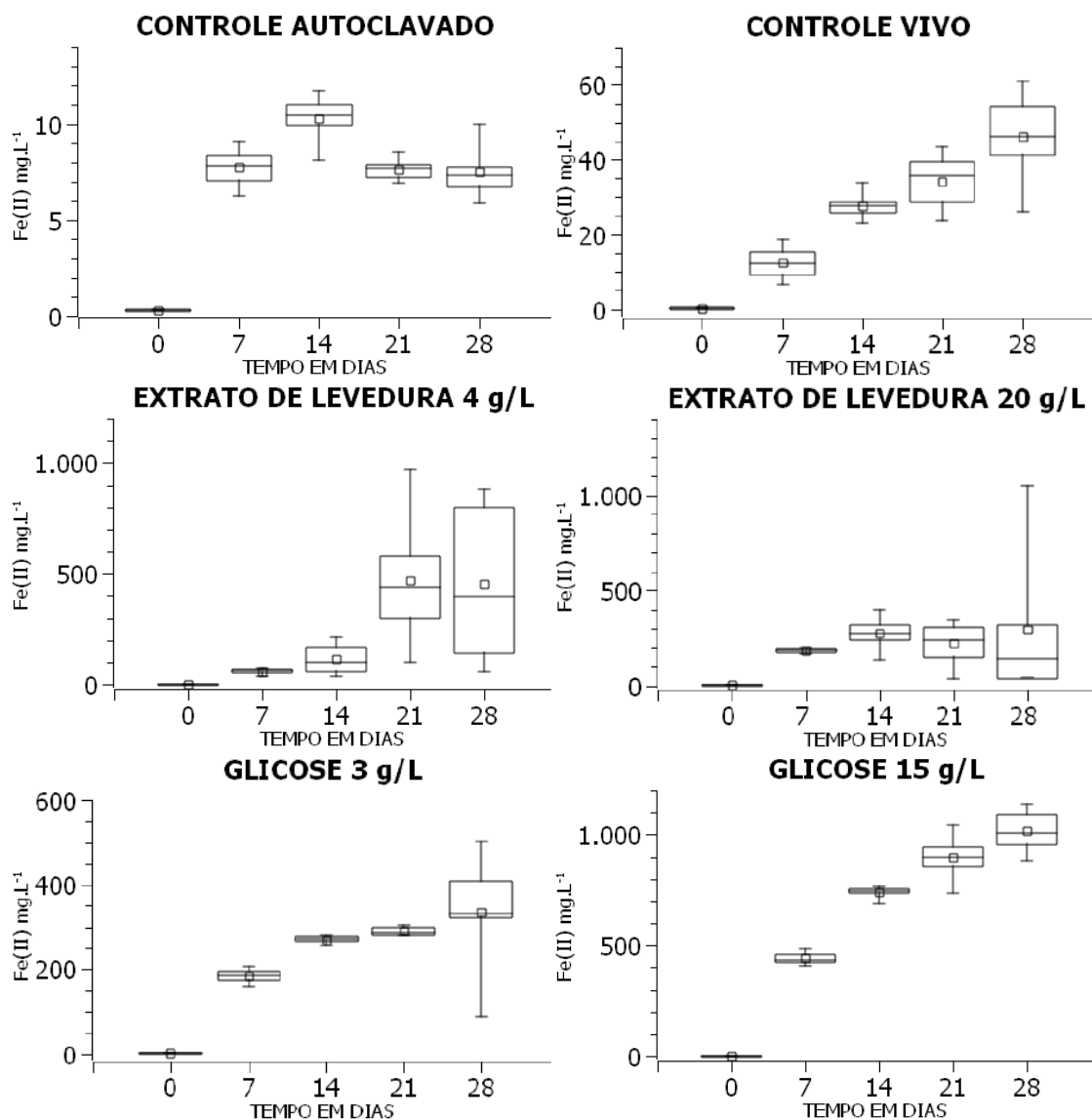


Figura 19- Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Tubarão. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado mostra a média.

Nos microcosmos do Rio Itambacuri (figura 20), nota-se aumento das concentrações de Fe(II) ao longo do tempo, com tendência de estabilidade ao final do experimento, com exceção do controle autoclavado, que oscilou entre ~ 1 e 3 mg.L^{-1} . As concentrações de Fe(II) em todos os experimentos com microrganismos vivos foram significativamente maiores que o controle autoclavado, segundo o teste *t* (Tabela 5). A diferença entre o controle vivo e acetato 34 g/L não foi significativa, assim como entre extrato de levedura 4 g/L e glicose 3 g/L e entre extrato de levedura 20 g/L e glicose 15 g/L. Todas as outras combinações mostraram diferenças significativas.

A figura 21 ilustra os resultados dos microcosmos do Rio Doce. No controle vivo os resultados mostraram tendência de estabilidade a partir de 7 dias. Nos microcosmos com extrato

de levedura, observa-se uma grande dispersão e tendência de estabilidade. No caso dos microcosmos enriquecidos com glicose 15 g/L, o resultado tem pouca dispersão e é claro o crescimento da concentração de Fe(II). O teste *t* de Student mostrou diferenças significativas para todas as combinações envolvendo glicose, e também entre os dois controles, e todas as combinações entre microcosmos com acetato e controles (Tabela 5). Por conta da grande dispersão, as diferenças não foram significativas em nenhuma combinação envolvendo extrato de levedura, e também entre as duas concentrações de acetato. Nas outras combinações, as diferenças foram significativas.

Para os microcosmos do Córrego Cachoeira Grande, é possível ver a tendência ao aumento na maioria dos gráficos, porém a dispersão foi grande, especialmente no controle vivo, microcosmos com acetato ou com extrato de levedura (Figura 22). O teste *t* de Student indicou diferenças significativas entre o controle autoclavado e todos os outros microcosmos (Tabela 5). As diferenças não foram significativas apenas para o par acetato 6,8 g/L-controlado vivo, as duas concentrações de extrato de levedura, e as duas concentrações de glicose.

Na tabela 5, observa-se os valores de “*p*” no teste *t* de Student comparando microcosmos com diferentes fontes de carbono. Em geral observa-se que as diferenças mais significativas (menores valores de *p*) foram observadas para os microcosmos com glicose, em todas as combinações. Na maioria dos casos, os controles autoclavados mostraram diferença significativa em relação a todos os microcosmos com microrganismos vivos. Frequentemente, as diferenças entre as duas concentrações da mesma fonte de carbono não foram significativas.

Na figura 23 estão dispostos os resultados da comparação de concentração de Fe(II) dos microcosmos de todos os ambientes aos 28 dias de incubação. Dentre os controles autoclavados, se destaca o Rio Tubarão, com $7,64 \pm 0,58$ mg.L⁻¹ de Fe(II) solúvel (Tabela 6). Essa concentração mais elevada pode estar relacionada ao menor tamanho de grão dos sedimentos, que não foi possível medir devido ao tamanho reduzido. Em sua maioria, os controles vivos mostraram concentrações de Fe(II) dissolvido baixas (até $5,86 \pm 0,85$ mg.L⁻¹), sendo as únicas exceções os rios Tubarão e Itambacuri, que atingiram médias de $34,2 \pm 7,7$ e $20,6 \pm 10,2$ mg.L⁻¹ de Fe(II) dissolvido, respectivamente (Figura 23, Tabela 6). Tais valores foram similares ou superiores aos observados nos microcosmos contendo extrato de levedura do Rio Pratinha, Rio do Salto e Córrego Cachoeira Grande, e nos microcosmos adicionados de glicose do Rio Pratinha e Rio do Salto. Isso sugere uma maior concentração de matéria orgânica biodegradável

nestes rios, visto que houve redução de ferro considerável sem a adição de substâncias orgânicas.

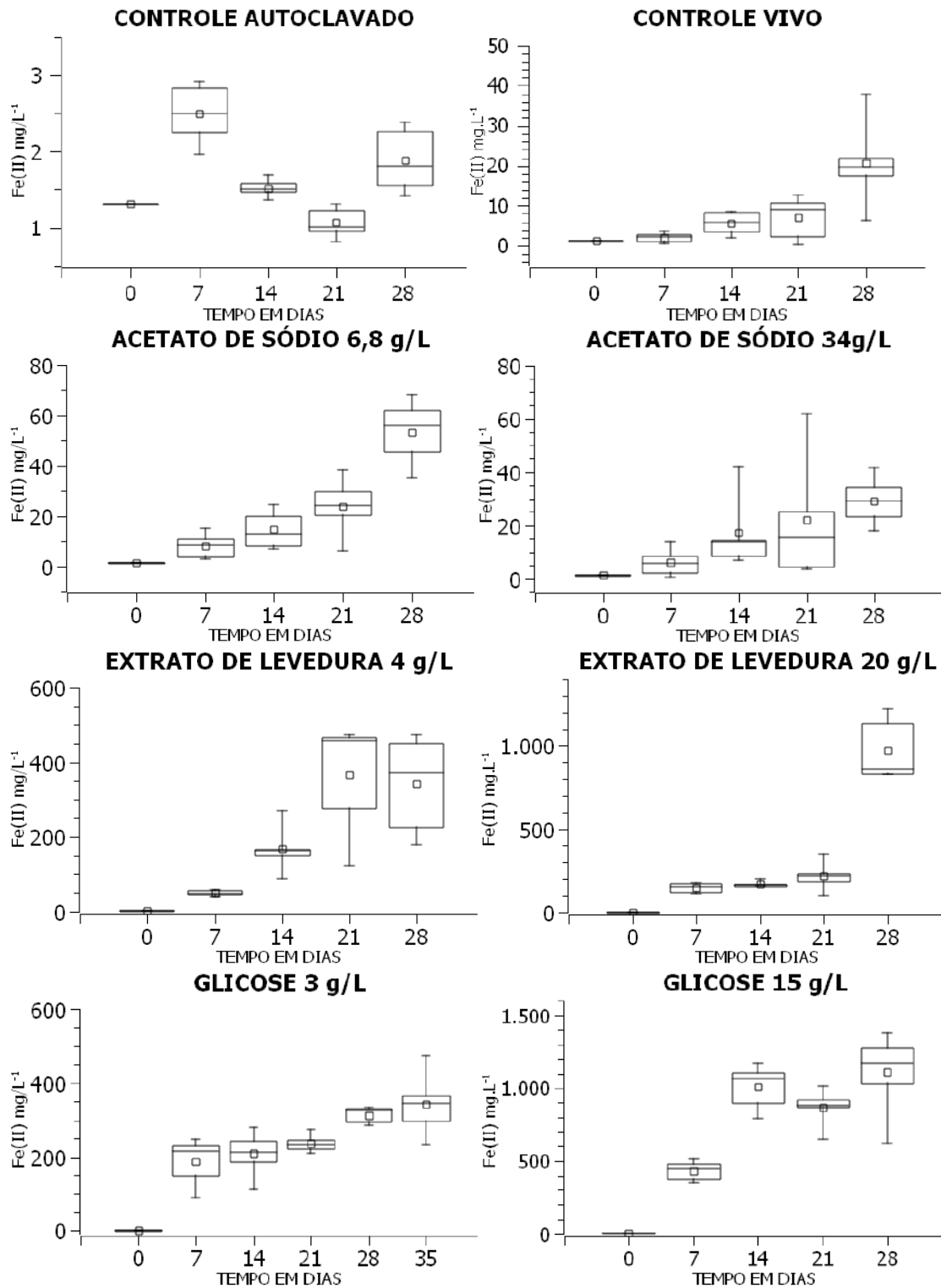


Figura 20 - Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Itambacuri. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado mostra a média.

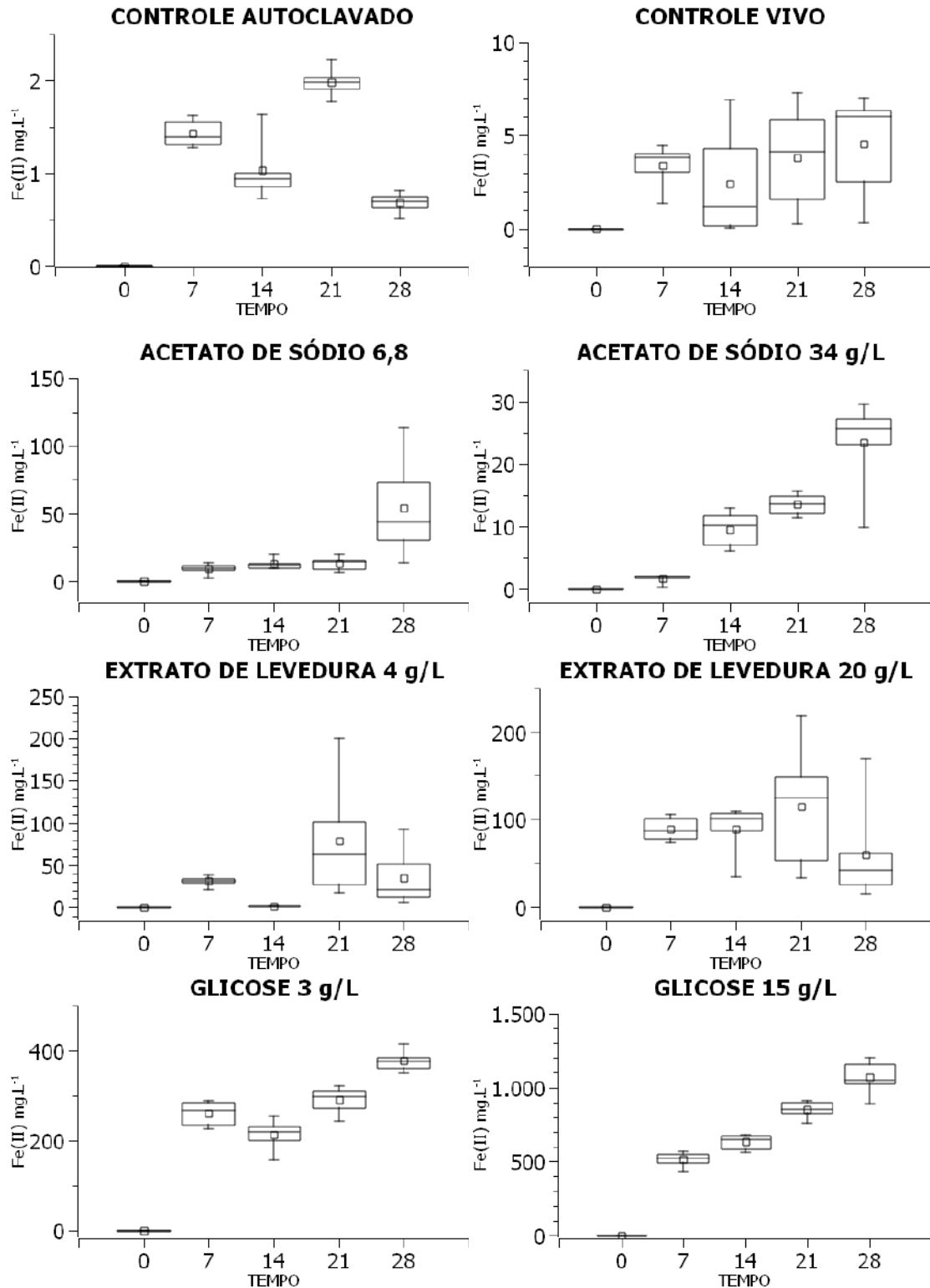


Figura 21 - Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Rio Doce. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado mostra a média.

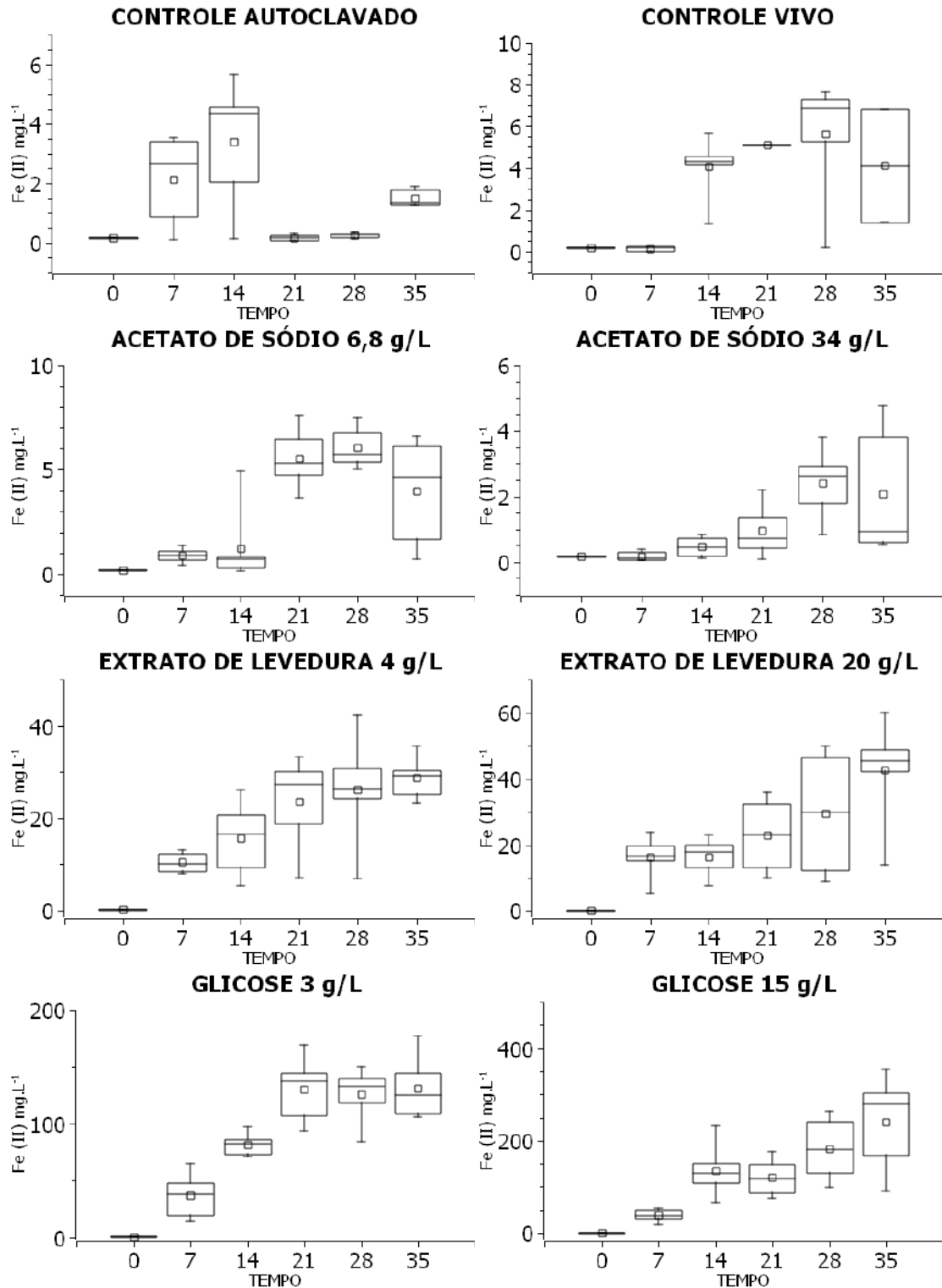


Figura 22 - Concentrações de Fe(II) dissolvido durante o experimento curto nos microcosmos do Córrego Cachoeira Grande. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado mostra a média.

Quanto aos microcosmos com acetato, as maiores concentrações de Fe(II) foram observadas nos microcosmos dos rios Itambacuri e Doce, com valores de $53,2 \pm 14,9 \text{ mg.L}^{-1}$ e $29,3 \pm 8,7 \text{ mg.L}^{-1}$ (Rio Itambacuri, acetato de Na 6,8 g/L e 34 g/L, respectivamente) e $54,1 \pm 5,1 \text{ mg.L}^{-1}$ e $23,5 \pm 1,8 \text{ mg.L}^{-1}$ (Rio Doce, acetato de Na 6,8 g/L e 34 g/L, respectivamente) (Figura 23, Tabela 6). Já nos microcosmos com extrato de levedura, os rios Tubarão e Itambacuri se destacaram com as maiores concentrações, de $472 \pm 302 \text{ mg.L}^{-1}$ e $219 \pm 117 \text{ mg.L}^{-1}$ (Rio Tubarão, extrato de levedura 4 g/L e 20 g/L, respectivamente) e de $342 \pm 134 \text{ mg.L}^{-1}$ e $970 \pm 218 \text{ mg.L}^{-1}$ (Rio Itambacuri, extrato de levedura 4 g/L e 20 g/L, respectivamente).

Nos gráficos da figura 23 que expõe os microcosmos adicionados de glicose, os rios Tubarão, Itambacuri e Doce apresentam as concentrações mais altas de Fe(II). As concentrações de Fe(II) foram equivalentes nestes 3 rios, para cada concentração de glicose. Para glicose 15 g/L, as médias observadas foram, respectivamente, $897 \pm 104 \text{ mg.L}^{-1}$, $1108 \pm 271 \text{ mg.L}^{-1}$, e $1069 \pm 57 \text{ mg.L}^{-1}$.

Tabela 5 – Valores de P obtidos pelo teste *t* de Student a partir da comparação dos dados de concentração de Fe(II) obtidos nos microcosmos experimentais adicionados de diferentes substratos orgânicos aos 28 dias de incubação.

Ambiente	Substrato	CTAT	CTVV	AC 6,8	AC 34	EL 4	EL 20	GLI 3	GLI 15
PR	CTAT	1	0,412	0,093	0,169	<0,0001	0,004	<0,0001	<0,0001
	CTVV	0,412	1	0,118	0,232	<0,0001	0,004	<0,0001	<0,0001
	AC 6,8	0,093	0,118	1	0,513	0,005	0,006	<0,0001	<0,0001
	AC 34	0,169	0,232	0,513	1	0,0003	0,005	<0,0001	<0,0001
	EL 4	<0,0001	<0,0001	0,005	0,0003	1	0,066	<0,0001	<0,0001
	EL 20	0,004	0,004	0,006	0,005	0,066	1	0,291	<0,0001
	GLI 3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,291	1	<0,0001
	GLI 15	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1
SAL	CTAT	1	0,011	0,016	0,006	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001
	CTVV	0,011	1	0,915	0,935	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001
	AC 6,8	0,016	0,915	1	0,971	<0,0001	0,0003	<0,0001	<0,0001
	AC 34	0,006	0,935	0,971	1	<0,0001	0,0003	<0,0001	<0,0001
	EL 4	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1	0,319	0,002	<0,0001
	EL 20	0,0002	0,0002	0,0003	0,0003	0,319	1	0,0008	<0,0001
	GLI 3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,002	0,0008	1	0,0002
	GLI 15	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0002	1
TUB	CTAT	1	0,0005	-	-	0,032	0,135	0,002	<0,0001
	CTVV	0,0005	1	-	-	0,044	0,184	0,004	<0,0001
	EL 4	0,032	0,044	-	-	1	0,483	0,384	0,013
	EL 20	0,135	0,184	-	-	0,483	1	0,801	0,005
	GLI 3	0,002	0,004	-	-	0,384	0,801	1	<0,0001
	GLI 15	<0,0001	<0,0001	-	-	0,013	0,005	<0,0001	1
ITA	CTAT	1	0,006	0,0003	0,001	0,002	0,017	<0,0001	0,00017
	CTVV	0,006	1	0,002	0,146	0,002	0,017	<0,0001	0,00018
	AC 6,8	0,0003	0,002	1	0,009	0,003	0,018	<0,0001	0,0002
	AC 34	0,001	0,146	0,009	1	0,002	0,017	<0,0001	0,00019
	EL 4	0,002	0,002	0,003	0,002	1	0,023	0,631	0,0003
	EL 20	0,017	0,017	0,018	0,017	0,023	1	0,034	0,450
	GLI 3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,631	0,034	1	0,0007
	GLI 15	0,00017	0,00018	0,0002	0,00019	0,0003	0,450	0,0007	1
DC	CTAT	1	0,022	0,016	0,0005	0,056	0,052	<0,0001	<0,0001
	CTVV	0,022	1	0,021	0,0006	0,079	0,063	<0,0001	<0,0001
	AC 6,8	0,016	0,021	1	0,096	0,369	0,843	<0,0001	<0,0001
	AC 34	0,0005	0,0006	0,096	1	0,451	0,180	<0,0001	<0,0001
	EL 4	0,056	0,079	0,369	0,451	1	0,385	<0,0001	<0,0001
	EL 20	0,052	0,063	0,843	0,180	0,385	1	<0,0001	<0,0001
	GLI 3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1	<0,0001
	GLI 15	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1
CCG	CTAT	1	0,006	<0,0001	0,004	0,003	0,015	<0,0001	0,0013
	CTVV	0,006	1	0,737	0,038	0,006	0,030	<0,0001	0,0015
	AC 6,8	<0,0001	0,737	1	0,0001	0,008	0,033	<0,0001	0,0015
	AC 34	0,004	0,038	0,0001	1	0,004	0,019	<0,0001	0,0013
	EL 4	0,003	0,006	0,008	0,004	1	0,745	<0,0001	0,002
	EL 20	0,015	0,030	0,033	0,019	0,745	1	<0,0001	0,002
	GLI 3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1	0,104
	GLI 15	0,0013	0,0015	0,0015	0,0013	0,002	0,002	0,104	1

PR: Rio Pratinha; SAL: Rio do Salto; ITA: Rio Itambacuri; DC: Rio Doce; CCG: Córrego Cachoeira Grande
 CTAT: controle autoclavado; CTVV: controle vivo; AC 6,8: acetato de sódio 6,8 g/L; AC 34: acetato de sódio 34 g/L;
 EL 4: extrato de levedura 4 g/L; EL 20: extrato de levedura 20 g/L; GLI 3: glicose 3 g/L; GLI 15: Glicose 15 g/L.
 Valores significativamente distinto ao nível de confiança de 95% são indicados em negrito.

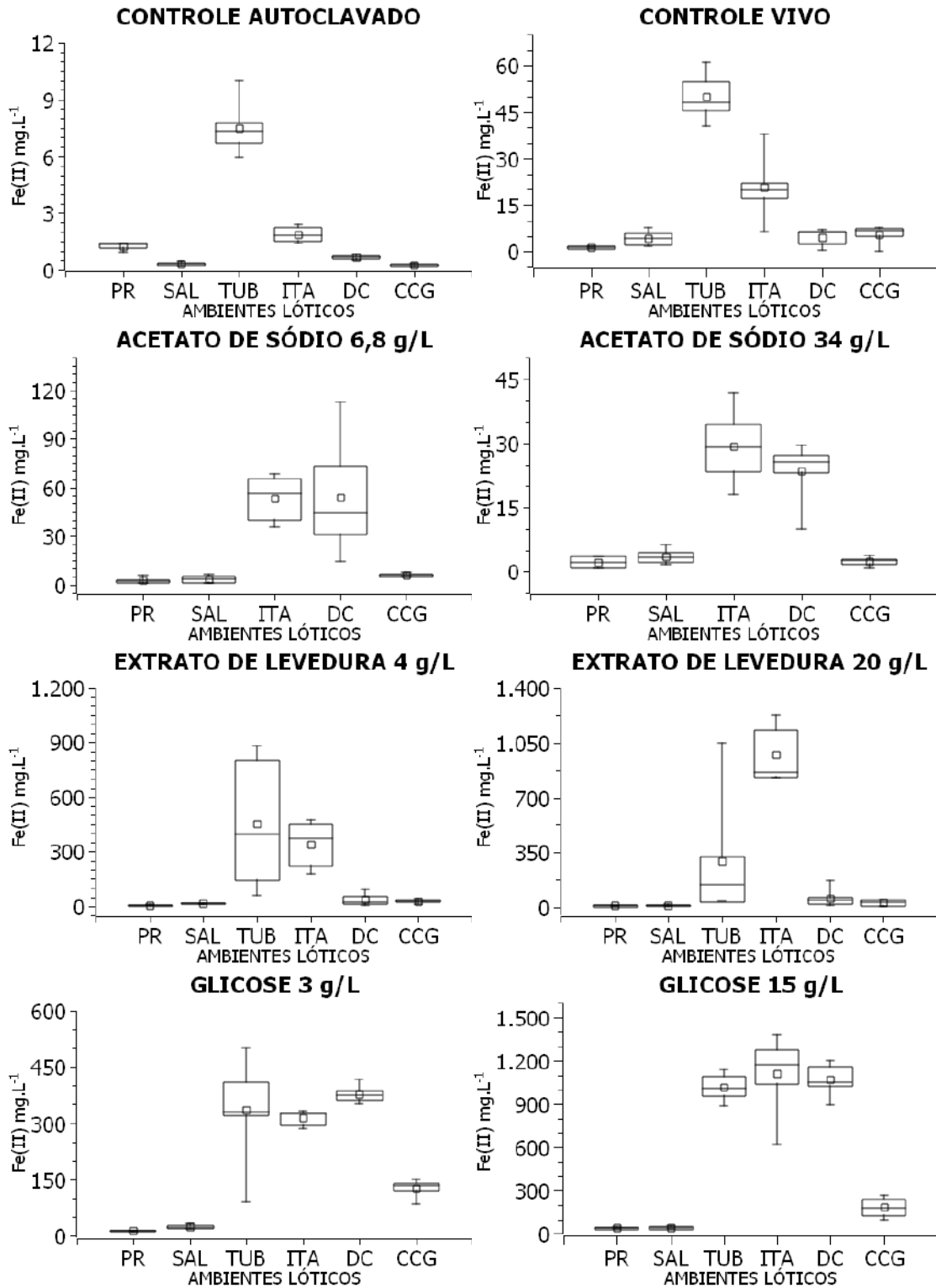


Figura 23 - Comparação das concentrações de Fe(II) dissolvido aos 28 dias de incubação no experimento curto. Os boxes ilustram os percentis 25%, 50% e 75%, as barras ilustram os valores máximos e mínimos, e o quadrado indica a média.

Tabela 6 – Média e desvio padrão da concentração de Fe(II) nos microcosmos aos 28 dias de incubação

	PR		SAL		TUB		ITA		DC		CCG	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
CTAT	1,26	0,37	0,37	0,06	7,64	0,58	1,89	0,42	0,69	0,15	0,25	0,08
CTVV	1,39	0,40	5,86	0,85	34,24	7,68	20,60	10,19	4,53	2,83	5,63	2,85
AC 6,8	2,80	1,10	5,74	2,40	-	-	53,19	14,85	54,07	5,14	2,39	3,76
AC 34	2,17	0,74	4,05	1,21	-	-	29,26	8,74	23,49	1,76	2,41	1,06
EL 4	6,20	1,30	11,79	1,47	472,00	301,86	341,75	133,84	34,95	69,54	26,27	11,57
EL 20	10,39	0,74	12,53	2,89	219,25	117,49	970,46	218,49	59,71	71,75	29,38	19,50
GLI 3	12,59	3,09	19,47	3,05	289,97	10,57	313,48	21,70	377,45	29,81	126,33	23,72
GLI 15	40,91	0,25	20,93	1,40	896,59	104,02	1107,97	271,42	1068,67	57,19	182,85	68,72

M: Média de Fe (II) dissolvido

DP: Desvio Padrão

5.3 Relação Fe(II) dissolvido e pH no experimento curto

O pH dos microcosmos mudou ao longo do experimento curto (Tabela 7). Nas correlações entre pH e Fe(II) dissolvido, é notável o agrupamento das amostras de cada fonte de carbono em determinadas faixas de pH e concentração de Fe(II), independentemente do ambiente (Figura 24). Nos microcosmos com glicose, o pH ácido indica fermentação (3,5-6,5), enquanto os controles e os microcosmos com acetato permaneceram neutros ou levemente alcalinos (6,4-8,1), e os microcosmos com extrato de leveduras se mostram mais variáveis, com 5,9-7,9 (Figura 24, Tabela 7). Embora o pH seja por vezes similar, as concentrações de Fe(II) dissolvido são sempre maiores nos microcosmos com extrato de levedura do que nos controles e microcosmos com acetato, sendo em geral similares nos controles e microcosmos com acetato. Além disso, há uma tendência de maiores concentrações de Fe(II) nos menores valores de pH, correspondendo aos microcosmos com glicose.

Tabela 7 – Média dos valores de pH dos microcosmos aos 28 dias de incubação*

	PR	SAL	TUB	DC	CCG
Água do rio	7,3	5,1	6,5	7,6	8,0
CTAT	7,4	5,3	6,0	6,5	6,1
CTVV	7,4	6,4	6,0	7,0	6,6
AC 6,8	7,6	6,6	-	7,9	6,8
AC 34	7,9	7,0	-	7,3	7,1
EL 4	7,0	6,0	6,5	7,5	6,8
EL 20	6,6	6,6	7,0	7,0	6,7
GLI 3	6,2	4,1	5,5	5,8	4,6
GLI 15	5,9	3,7	4,0	5,2	4,3

*Não houve a medição de pH durante o experimento curto do Rio Itambacuri

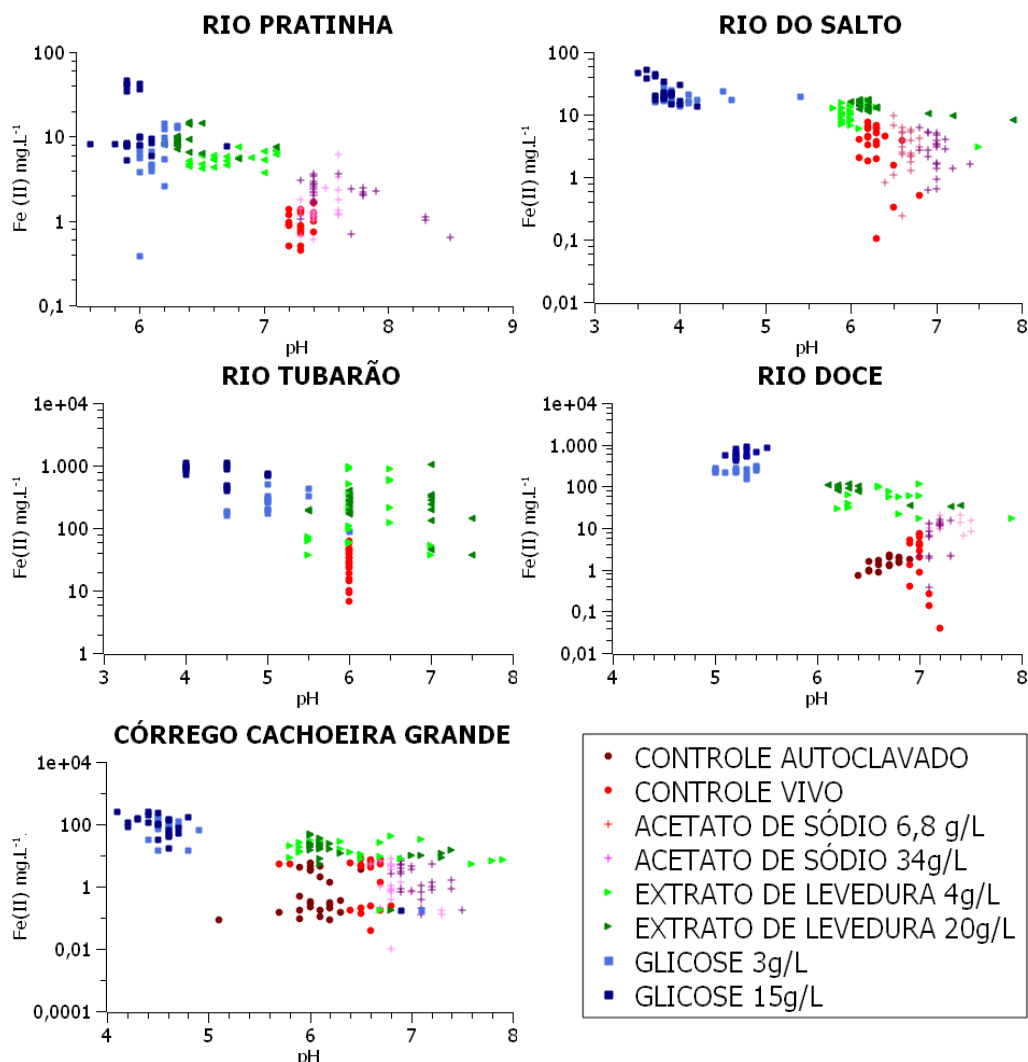


Figura 24 - Correlação entre Fe(II) dissolvido e pH. A concentração de Fe(II) dissolvido está em escala logarítmica.

5.4 Quantificação de ferro ferroso e pH no experimento longo

As figuras 25 a 30 mostram a evolução das concentrações de Fe(II) solúvel ao longo do tempo. Como esperado, nos microcosmos do experimento longo suplementados com glicose, os pHs se tornaram rapidamente ácidos e as concentrações de Fe(II) foram muito superiores aos controles vivos (Figuras 25-27, 29, 30). As maiores concentrações de Fe(II) foram observadas nos microcosmos dos rios Tubarão, Itambacuri e Doce (Figuras 25-30, Tabela 8). A morfologia das curvas de concentração de Fe(II) e pH obtidas no experimento longo são bastante similares em todos os rios, porém os valores variam bastante com o ambiente (Figuras 25-30).

Na maioria dos casos, houve um aumento seguido de queda gradual nas concentrações de Fe(II) nos microcosmos com glicose, o que poderia indicar início da depleção do Fe(III) prontamente redutível por microrganismos dos sedimentos (Figuras 25-29). O início da queda nas concentrações de Fe(II) ocorreu entre 4 e 6 semanas nos rios Pratinha, Salto, Tubarão e

Doce (Figuras 25-27, 29), porém no Rio Itambacuri, ocorreu após 14 semanas (Figura 28), enquanto no Córrego Cachoeira Grande não foi observada nas 10 semanas de experimento (Figura 30). A manutenção das concentrações de Fe(II) nos microcosmos do Córrego Cachoeira Grande possivelmente ocorreu devido ao tempo mais curto do experimento (140 dias) em relação aos outros rios (155-485 dias).

Ao observar a curva de Fe(II) e a do pH de todos os rios, nota-se que as concentrações de pH se mantêm na mesma faixa, mesmo com o declínio da curva de ferro ferroso.

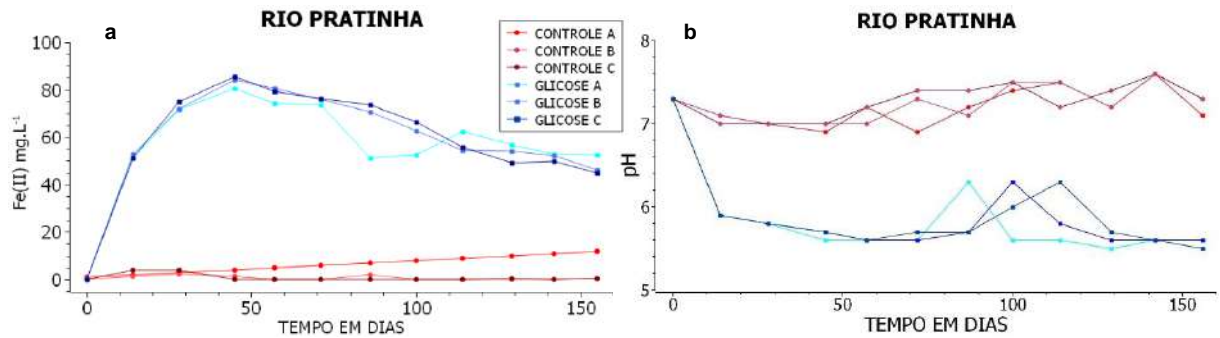


Figura 25 – Experimento longo do Rio Pratinha. **a.** Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos. **b.** Valores de pH da fase líquida.

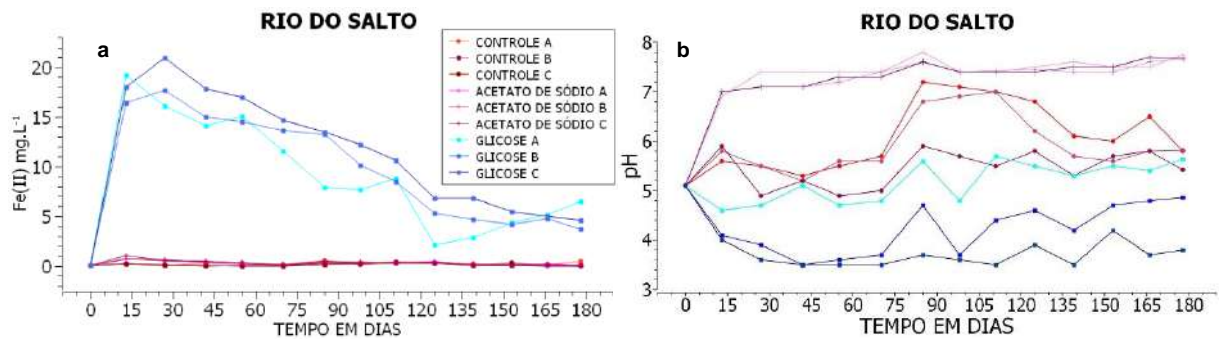


Figura 26 – Experimento longo do Rio do Salto. **a.** Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos. **b.** Valores de pH da fase líquida.

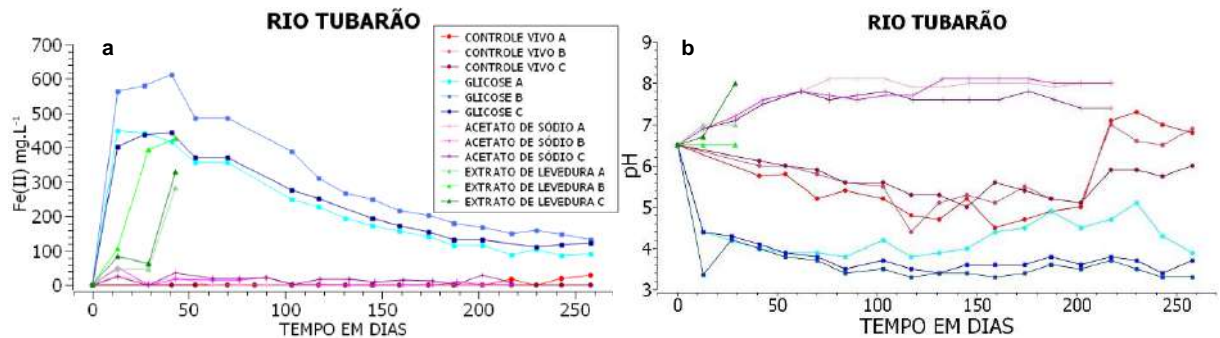


Figura 27 - Experimento longo do Rio Tubarão. **a.** Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos. **b.** Valores de pH da fase líquida.

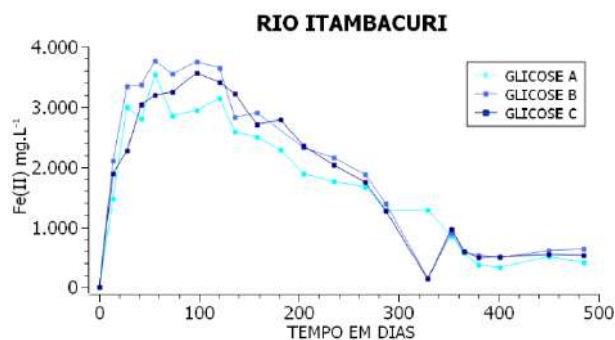


Figura 28 - Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos do Rio Itambacuri no experimento longo

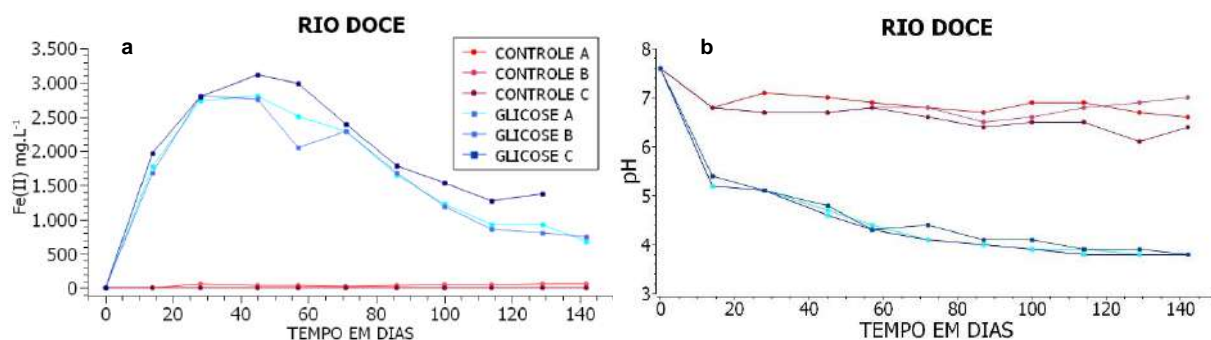


Figura 29 - Experimento longo do Rio Doce. **a.** Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos. **b.** Valores de pH da fase líquida.

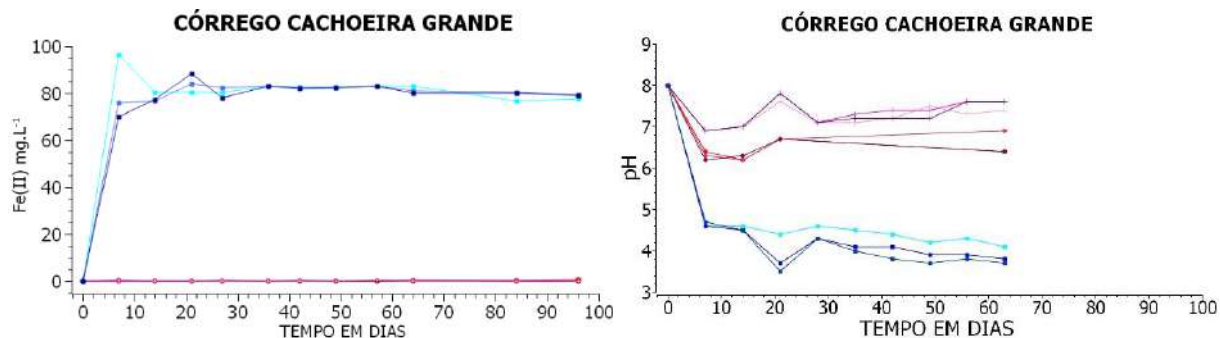


Figura 30 - Experimento longo do Córrego Cachoeira Grande. **a.** Concentração de Fe(II) na fase líquida dos microcosmos. **b.** Valores de pH da fase líquida.

Tabela 8 - Valores de concentração de Fe(II), pH e número de dias de incubação dos microcosmos de glicose 15 g/L com maiores concentrações de Fe(II) dissolvido no experimento longo.

Ambiente	PR	SAL	TUB	ITA	DC	CCG
Dias de incubação	45	27	41	56	45	7
Fe (II) dissolvido (mg.L ⁻¹)	85,3	20,9	613	3768	3106	96,2
pH	5,9	3,6	3,9	-	4,8	8

*Não houve medição de pH para o Rio Itambacuri.

PR, Rio Pratinha; SAL, Rio do Salto; ITA, Rio Itambacuri; DC, Rio Doce; CCG, Córrego Cachoeira Grande

Nos microcosmos com acetato, as concentrações de Fe(II) se mantiveram muito próximos às dos controles vivos e apresentavam pH mais alcalino (Figuras 25-27, 29, 30). Houve aumento considerável nas concentrações de Fe(II) dos microcosmos do Rio Tubarão

com extrato de levedura, atingindo valores próximos aos observados nos microcosmos com glicose (Figura 27). Porém, o experimento foi descontinuado por causa da formação de sulfeto ferroso em excesso. A tabela 9 expõe a quantidade aproximada de Fe(II) removido dos sedimentos dos microcosmos do experimento longo. Como esperado, nos controles vivos de todos os rios os valores são muito menores quando comparados aos de microcosmos com glicose. Outro padrão observado nos resultados foram as quantidades de Fe(II) removido dos microcosmos com acetato de sódio, que foram maiores que as do controle vivo, mas ainda assim muito inferiores às dos microcosmos com glicose.

Os microrganismos conseguiram extrair mais Fe(II) dos sedimentos dos microcosmos de glicose 15 g/L nos rios Itambacuri, Doce e Tubarão, onde a média e o desvio padrão correspondem, em ordem, a $830 \pm 81,3$ mg; $358 \pm 24,9$ mg; e $78,3 \pm 14,1$ mg (Tabela 9). No caso do Rio Doce, a quantidade de Fe removida dos microcosmos foi da ordem de 1% do peso seco dos sedimentos adicionados a cada microcosmo. Nos rios Pratinha, do Salto e no Córrego Cachoeira Grande foram extraídos, em média: $13,94 \pm 0,31$ mg; $2,71 \pm 0,33$ mg; e $17,86 \pm 0,23$ mg (Tabela 9).

Tabela 9 – Fe(II) retirado dos microcosmos no experimento longo

Rio	Microcosmo	Sedimentos (peso seco)	Fe(II) * removido/frasco	Dias de incubação	N
Rio Pratinha, MG	Controle vivo	26,8 g	$0,17 \pm 0,03$ mg	155	54
	Glicose 15g/L		$13,9 \pm 0,31$ mg		
Rio do Salto, MG	Controle vivo	39,9 g	$0,04 \pm 0,01$ mg	178	42
	Acetato 34g/L		$0,07 \pm 0,01$ mg		
	Glicose 15g/L		$2,71 \pm 0,33$ mg		
Rio Tubarão, SC	Controle vivo	5,5 g	$0,04 \pm 0,03$ mg	204	51
	Acetato 34g/L		$2,51 \pm 1,20$ mg		
	Extrato de levedura 20g/L		$11,9 \pm 5,86$ mg		
	Glicose 15g/L		$78,3 \pm 14,1$ mg	84**	12**
Rio Itambacuri, MG	Glicose 15g/L	-	$830 \pm 81,3$ mg	485	69
Rio Doce, MG	Controle vivo	29,5 g	$3,03 \pm 4,75$ mg	142	54
	Glicose 15g/L		$358 \pm 24,9$ mg		
Córrego Cachoeira Grande, RJ	Controle vivo	40,0 g	$0,86 \pm 0,60$ mg	153	36
	Acetato 34g/L		$1,67 \pm 0,36$ mg		
	Glicose 15g/L		$17,9 \pm 0,23$ mg		

*(média \pm desvio padrão).**Não foi possível dar continuidade ao experimento.

Os números de “N” se referem ao número de amostras onde foi medida a concentração de Fe(II), que corresponde ao número de trocas de cada microcosmos multiplicado por 3.

6 Discussão

6.1 Características dos sedimentos dos rios

Grãos menores são mais fáceis de serem dissolvidos do que grãos maiores em consequência da maior relação superfície/volume (Ruby et al., 1999). Portanto, o Fe(III) dos minerais, pode estar mais biodisponível para microrganismos redutores de ferro em sedimentos com tamanho de grão menor.

O fator de forma ou esfericidade é essencial para entender a dinâmica dos sistemas fluviais, pois indica o alongamento ou arredondamento dos grãos sedimentares. Um grão que tende a ser esférico em geral está desgastado, provavelmente é mais antigo e/ou já foi transportado intensamente pelo curso d'água, o que intensifica a abrasão. Em contraponto, o mais alongado está em ambientes de deposição com baixa energia, com movimentos de água menos intensos.

A microscopia ótica de campo claro e polarização se complementam, pois destacam a coloração e a birrefringência dos minerais, respectivamente. Por exemplo, o quartzo pode ser identificado pela transparência na microscopia de campo claro em conjunto com a intensidade e as cores de interferência na microscopia de polarização, como observado nas figuras 13c-d e 14e-f que retratam o Rio do Salto e Córrego Cachoeira Grande. Nessas figuras, há predominância de quartzo. Isso se dá pelas particularidades geológicas e outras características ambientais de cada rio.

Na microscopia de polarização dos sedimentos do Rio Pratinha, (13a-b) foi visto abundância de outro mineral birrefringente (seta laranja). A intensidade e coloração da birrefringência, além das observações feitas na lupa, sugerem presença significativa de carbonatos, incluindo alguns bioclastos.

De acordo com a base de dados do Serviço Geológico do Brasil (GeoSGB) e a carta geológica da folha de cada região, os litótipos e as principais características geológicas nas proximidades do ponto de coleta, que de maneira geral envolvem o Rio Pratinha, BA, as principais características geológicas incluem arenito, pelito, quartzarenitos que variam de muito finos a médios, e conglomerados de coloração avermelhada.

Para o Rio do Salto, MG os litótipos predominantes incluem biotitas-gnaiss, diferentes tipos de quartzito e quartzo-mica-xisto, segundo o mesmo serviço.

No que se refere ao Rio Tubarão, SC, as características geológicas são: areias finas, síltico-argilosas em cores claras, além de concreções carbonáticas e ferruginosas.

Quanto ao Rio Itambacuri, MG incluem gnaisses, mármore, xisto, cascalho, bem como sedimentos finos e médios em diversas tonalidades, além de restos de matéria orgânica.

Em relação ao Rio Doce, MG, as características geológicas próximas ao ponto de coleta são representadas por granodiorito gnáissico, areia e argila, além de sedimentos areno-argilosos aluvionares inconsolidados, tanto finos quanto médios, que apresentam colorações variadas e restos de matéria orgânica. Vale ressaltar que esse rio foi prejudicado pelo desastre ambiental do rompimento da barragem do Fundão que levou a liberação da lama com rejeito de minério de ferro, logo as características geológicas foram alteradas, sendo adicionados eteraminas e grandes quantidades de óxidos de ferro (hematita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$; goetita $\alpha\text{-FeOOH}$; e magnetita $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$), quartzo (SiO_2), caulinita ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$), biotita ($\text{K}(\text{Mg},\text{Fe})_3\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$), gibsitita ($\text{Al}(\text{OH})_3$) e ilita ($\text{K}_{0,65}\text{Al}_2[\text{Al}_{0,65}\text{Si}_{3,35}\text{O}_{10}](\text{OH})_2$) (Queiroz et al., 2018; Santos et al., 2019; Valeriano et al., 2019).

Por fim, nas proximidades do Córrego Cachoeira Grande, RJ, os litótipos e as características geológicas são compostos por areia e silte argilosos ricos em matéria orgânica, além de lama arenosa e carbonosa, que contém restos de material orgânico vegetal, biotita, quartzo, feldspatos, titanita e alanita.

As informações acima são generalistas e caracterizam cada região, ainda assim, é capaz de explicar a maioria dos sedimentos encontrados nos pontos de coleta e expostos nas microscopias apresentadas nas figuras 12, 13 e 14.

6.2 Redução do Fe(III) por microrganismos autóctones em microcosmos – experimento curto

Em todos os casos, as maiores concentrações de ferro reduzido foram encontradas nos microcosmos adicionados de glicose, principalmente na concentração 15g/L (Figuras 17-22, Tabela 6). Concentrações de Fe(II) bem maiores que nos controles também foram observadas nos microcosmos adicionados de extrato de levedura, principalmente na concentração 20 g/L, ao contrário dos que foram suplementados com acetato de sódio, em geral similares aos controles vivos. A similaridade com os controles poderia indicar que o acetato não foi utilizado como doador de elétrons para a redução do ferro. Em particular, os microcosmos com acetato de sódio 6,8 g/L de todos os ambientes estudados muitas vezes apresentam valores iguais ou superiores aos microcosmos com acetato de sódio 34 g/L, o que pode indicar toxicidade do sódio aos microrganismos ferro-redutores. Outra possibilidade seria que o pH mais alto levaria à precipitação de minerais de Fe(II) como a magnetita (Bell et al., 1987). Por outro lado, nos

microcosmos adicionados de glicose ou extrato de levedura, em geral as maiores concentrações de Fe(II) foram observadas nos microcosmos com as maiores concentrações da fonte de carbono.

A fonte de carbono tem um impacto significativo na atividade de redução do Fe(III) e na composição da comunidade microbiana, pois determinados substratos podem favorecer a proliferação de microrganismos que fazem a redução dissimilatória de ferro ou que acoplam a fermentação à redução de ferro (Lentini et al., 2012; Kwon et al., 2016).

As diferenças observadas entre os controles vivos e os autoclavados demonstra o papel dos microrganismos vivos. Quando a água e os sedimentos foram autoclavados, os microrganismos capazes de fazer a redução do ferro passaram por um processo drástico, deixando de ser ativos e, por isso, não houve aumento significativo do Fe(II) ao longo do tempo, mesmo que nos microcosmos de controle autoclavado tenha glicose 15 g/L adicionada. Em geral, há ligeiro aumento em relação ao tempo zero e estabilidade, o que sugere que a autoclavação reduz um pouco de ferro. De fato, tem sido observado que a autoclavação leva à liberação de pequenas quantidades de Fe dos sedimentos (Otte et al., 2018; Chifflet et al., 2019). Além disso, houve uma leve diminuição de pH, o que poderia ser explicada pela degradação de uma fração da glicose no processo de autoclavação, gerando ácidos orgânicos, conforme observado por Musyanovych et al. (2000). Em contraponto, nos microcosmos de controle vivo de todos os ambientes houve aumento na redução de ferro ao longo do tempo. O fato de que as concentrações de Fe(II) nos microcosmos “controle vivo” são, em geral, inferiores aos demais microcosmos com fontes de carbono adicionadas indica que o fator limitante para a redução do ferro pelos microrganismos nativos é a matéria orgânica presente em cada ambiente.

O limite para Fe dissolvido em águas superficiais e subterrâneas no Brasil depende dos usos pré-estabelecidos da água. Para águas doces das classes especial, 1 ou 2, o limite de Fe(dissolvido) é de 0,3 mg.L⁻¹, e para águas de classe 3, é de 5 mg.L⁻¹ (Resolução CONAMA 357, de 2005); e para águas subterrâneas, o limite para o Fe(total) é de 0,3 mg.L⁻¹ quando destinadas ao consumo humano e à recreação, e 5 mg.L⁻¹ quando destinadas à irrigação (Resolução CONAMA 396, de 2008). Considerando que a solubilidade do Fe(III) é muito baixa e que a maior parte do Fe(dissolvido) em ambientes aquáticos superficiais corresponde a Fe(II) (ex. Teramoto et al., 2021), pode-se equiparar as concentrações de Fe(II) e Fe(dissolvido) para fins de comparação. As concentrações médias de Fe(II) nos microcosmos excederam o limite de 5 mg.L⁻¹ em todos os microcosmos adicionados de extrato de levedura ou glicose de todos os rios estudados, além de ambos os controles no Rio Tubarão, do controle vivo do Rio

Itambacuri e também do Córrego Cachoeira Grande. Quanto ao limite de $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$, foi ultrapassado em todos os casos, incluindo os microcosmos controles de riachos preservados como o Rio Pratinha, Rio do Salto e o Córrego Cachoeira Grande, sendo os dois últimos localizados em unidades de conservação e, portanto, seriam da classe especial. Essa excedência do limite de ferro dissolvido sugere que, nas regiões anaeróbias dos sedimentos dos rios, a concentração de Fe(II) é muito frequentemente superior ao limite máximo estabelecido para águas de classe especial, 1 e 2, e também para águas subterrâneas destinadas ao consumo humano e/ou recreação, em consequência da redução microbiana do Fe. De fato, a presença de elevadas concentrações de ferro e elementos-traço em água de poços tem sido observada repetidamente (Chanpiwat et al., 2011; Carvalho et al., 2018; Malczewska et al., 2018). Nosso trabalho vem contribuir para o entendimento o processo pelo qual o Fe de minerais é reduzido e dissolvido em ambientes anóxicos dos sedimentos de ambientes lóticos e também em águas subterrâneas, que em geral são anóxicas.

A dissolução redutiva do Fe pode ser agravada pelo excesso de matéria orgânica biodegradável, como aquela presente nos esgotos “in natura”. Um exemplo claro de como isso pode influenciar na concentração de Fe(II) é o exemplo visto na figura 23a, onde os microcosmos “controle vivo” do Rio Tubarão, que recebe a maior parte dos esgotos sem tratamento dos municípios de Tubarão e Capivari de Baixo (SC), apresentaram concentrações de Fe(II) de $61,2 \text{ mg.L}^{-1}$ em média, valor maior que os obtidos para o Rio Doce, certamente mais rico em ferro do que o Rio Tubarão, devido à presença do rejeito de mineração de ferro da Barragem de Fundão, rompida em 2015. Estudos anteriores já tinham apontado para o papel da matéria orgânica na mobilização do ferro de minerais na forma de Fe(II) (Santos, 2019; Sanjad, 2021; Santos et al., 2023), mesmo em locais onde os sedimentos não foram impactados por rejeito de mineração de ferro (Sanjad, 2021).

Santos (2019) também buscou entender a influência dos microrganismos e da matéria orgânica na dissolução redutiva do Fe utilizando microcosmos anaeróbios suplementados com diferentes substratos orgânicos, e seu papel na liberação de elementos-traço presentes nos sedimentos para a água. Esse estudo foi feito com água e sedimentos dos rios Doce e Gualaxo do Norte, dois corpos d'água atingidos pelo rejeito de mineração após o rompimento da Barragem do Fundão em Mariana, MG, em 2015. Nos microcosmos com adição de glicose e extrato de levedura, as concentrações de Fe(II) ficaram muito acima do que o preconizado pelos órgãos reguladores para águas de rios, além de estarem maiores que nas concentrações observadas nos microcosmos controle, de modo similar ao presente estudo. Sanjad (2021)

observou comportamento muito similar em microcosmos construídos a partir de sedimentos e água do Rio Paraopeba, tanto em trechos atingidos quanto não atingidos por rejeito de mineração da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão, rompida em 2019 no município de Brumadinho (MG). A similaridade de comportamento das concentrações de Fe(II) nos microcosmos dos trabalhos anteriores e do presente trabalho confirma que matéria orgânica fermentável, simples (como a glicose) ou complexa (como o extrato de levedura), funciona como doador de elétrons para a redução microbiana do Fe(III) dos minerais dos sedimentos de rios. Nos trabalhos de Santos (2019) e de Santos et al. (2023), os elementos-traço alumínio, bário, manganês e zinco foram liberados na água juntamente com o Fe(II), todos eles em concentrações acima do permitido pela Resolução CONAMA 357/2005 para águas de classe especial, 1 e 2 e, no caso do Al, Ba, e Mn, também acima do permitido para classe 3.

Lentini et al. (2012) observaram que a influência da matéria orgânica é decisiva para o favorecimento de fermentadores ou redutores de ferro. Em enriquecimentos utilizando acetato como doador de elétrons e ferrihidrita como fonte de Fe(III), houve predominância de microrganismos como *Geobacter*, que sabidamente fazem redução dissimilatória de ferro. Por outro lado, meios com glucose ou lactato como doador de elétrons e goetita ou hematita como fontes de Fe(III) promoveram microrganismos conhecidos como fermentadores e redutores de sulfato, que reduziriam direta ou indiretamente o Fe(III), respectivamente.

As concentrações relativamente mais baixas observadas no microcosmos do Córrego Cachoeira Grande e dos rios do Salto e Pratinha provavelmente refletem a baixa disponibilidade de Fe(III) para ser reduzido, o que provavelmente se deve ao menor impacto antropogênico. Por outro lado, a influência antropogênica é um provável fator levando às altas concentrações de Fe(II) nos microcosmos suplementados com extrato de levedura ou glicose dos rios Tubarão, Doce e Itambacuri. Dentre as atividades econômicas que poderiam resultar em maior concentração de minerais de Fe(III) nos sedimentos dos rios, destacam-se a mineração de carvão e minerais sulfetados que levam à formação de jarosita ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$) e outros minerais secundários de Fe(III) (ex. Hrselová et al., 2024), a mineração de ferro que libera particulados finos de óxidos de ferro nos rios (Queiroz et al., 2018; Santos et al., 2019; Valeriano et al., 2019), e as atividades agropecuárias, que intensificam a erosão do solo e o assoreamento dos rios com partículas de solo que, em diversas regiões do Brasil são ricas em minerais de Fe(III) (Araujo et al., 2014; Coblinski et al., 2021).

6.3 Correlação da Redução do Fe(III) por microrganismos e alteração do pH dos microcosmos do experimento curto

É razoável afirmar que o pH sozinho não foi o responsável pelo aumento de Fe(II) na fase líquida, visto que os microcosmos com acetato de sódio permaneceram na mesma faixa de pH que os de extrato de levedura e, mesmo assim, as concentrações de ferro foram muito inferiores, se aproximando das concentrações dos controles vivos. Por outro lado, as maiores concentrações de Fe(II) e os menores valores de pH foram observados nos microcosmos com glicose. A diminuição do pH indica que a glicose foi fermentada, o que sugere que a redução do Fe(III) a Fe(II) acoplada à fermentação foi mais importante que a redução dissimilatória do ferro. Por outro lado, há a possibilidade de que microrganismos com metabolismo respiratório tenham utilizado produtos de fermentação como doadores de elétrons para a redução do Fe. Santos et al. (2023) observaram comportamento similar em microcosmos construídos a partir de água e sedimentos do Rio Gualaxo do Norte, impactado por rejeito de mineração e rico em minerais cristalinos como hematita e goetita, e propuseram que a fermentação seria o processo majoritário de redução do ferro, já que a redução do ferro destes minerais pelos microrganismos que fazem a redução dissimilatória do ferro não é suficientemente favorável do ponto de vista termodinâmico (Santos et al., 2023).

Nos microcosmos com glicose, percebe-se a diminuição dos valores de pH em todos os rios. List et al (2019), em estudo sobre o metabolismo de *C. acetobutylicum*, comparou a fermentação acoplada à redução do Fe(III) em diversas situações por 24h e observou que a redução de ferro coincidia com o declínio do pH e com o aumento dos produtos de fermentação. Após 24 horas, a cultura enriquecida com oxi-hidróxido de Fe(III) ficou com pH 5,6, a sem adição de Fe(III) com pH 4,5, e o controle abiótico permaneceu no pH que todas começaram: 6,5. Essa diferença de pH seria devida ao um efeito tamponante da redução do Fe. Esse efeito poderia explicar a menor diminuição de pH observada nos microcosmos do Rio Doce, que mostrou um dos maiores valores de concentração Fe(II) nos microcosmos de glicose e uma das menores variações de pH. Por outro lado, os sedimentos dos rios são complexos e podem ter outros processos de regulação do pH, como por exemplo dissolução de carbonatos (Esteves e Marinho, 2011).

6.4 Redução do Fe(III) por microrganismos autóctones em microcosmos – experimento longo

Os microcosmos que atingiram as maiores concentrações de Fe(II) no experimento longo foram aqueles adicionados com glicose representando os rios Tubarão, Doce e Itambacuri, rios impactados por atividades como agropecuária, mineração e lançamento de esgotos. Em contraste, microcosmos construídos com material coletado em rios e córregos localizados em áreas de preservação ou protegidos por atividades de ecoturismo, como o Córrego Cachoeira Grande, Rio do Salto e Rio Pratinha, apresentaram menores concentrações de Fe(II), provavelmente devido à menor disponibilidade de Fe(III) disponível para ser reduzido nos sedimentos. Esses resultados ressaltam a importância da conservação de corpos d'água e seu entorno para minimizar a entrada de particulados ricos em Fe e elementos-traço no sistema lótico. Nos casos dos rios que mostraram maiores quantidades de Fe(III) biorredutível como o Rio Tubarão, Rio Itambacuri, e o Rio Doce, também é importante minimizar o aporte de matéria orgânica e nutrientes como N e P que poderiam levar à eutrofização, e assim manter as concentrações de Fe e elementos-traço na água em níveis adequados. Isso é importante para diminuir os impactos sobre a biota selvagem, animais de criação, plantas irrigadas e reduzir os custos do tratamento de água para abastecimento urbano.

Santos et al. (2023), em experimento utilizando microcosmos anaeróbios enriquecidos também com glicose 15g/L, água e sedimentos do Rio Doce (coleta em 29-07-2017), observou que no intervalo de 35 dias, o pico de concentração de Fe(II) dissolvido chegou a 5.000 mg.L⁻¹ (mediana), valor bem maior que os observados no presente trabalho (valor máximo 3106 mg.L⁻¹; Tabela 8). Nessa época, o desastre de extravasamento de rejeito de mineração de ferro da Barragem de Fundão estava mais recente e, por isso, haveria muito mais Fe(III) biodisponível. Isso poderia indicar que os óxidos de ferro oriundos do rejeito estão sendo dissolvidos, e o que resta está ficando menos biodisponível com o tempo. A dissolução desse rejeito libera vários elementos-traço para a água, em particular o manganês (Santos et al., 2023), elemento-traço que vem sendo encontrado acima dos valores máximos preconizados na Resolução CONAMA 357/2005 no Rio Doce (Richard et al., 2020; Frachini et al., 2021; Mourão et al., 2023).

Sanjad (2021) utilizou água e sedimentos do Rio Paraopeba, também atingido por rejeito de minério de ferro, neste caso em 2019 após o rompimento da Barragem I da Mina de Córrego do Feijão no município de Brumadinho (MG). Foram construídos microcosmos anaeróbios com água e sedimentos do Rio Paraopeba de três pontos diferentes, um a montante das áreas atingidas e os outros dois a jusante do ponto de entrada do rejeito no rio, suplementados com

glicose e incubados por mais de 200 dias. De modo similar ao presente trabalho, foi observado aumento das concentrações de Fe(II) dissolvido ao longo do tempo nos microcosmos. Os microcosmos representando os diferentes pontos de coleta só começaram a apresentar diferenças entre si após 50 dias de incubação: nos microcosmos do ponto não atingido pelo rejeito de mineração houve queda das concentrações de Fe(II) dissolvido, enquanto nos demais, as concentrações continuaram a subir, depois atingiram um platô acima dos 10.000 mg.L⁻¹, e começaram a cair lentamente, do mesmo modo que os microcosmos com glicose dos experimentos longos do presente trabalho (Figuras 25-30).

7 Conclusões

1. Os ambientes apresentados possuem composição e morfologia dos sedimentos distintas, o que certamente tem influência na dissolução reductiva do ferro.
2. Os microrganismos capazes de reduzir o ferro estão ativos em todos os rios estudados.
3. A presença de matéria orgânica e de microrganismos vivos é essencial para a redução microbiana do Fe(III) a Fe(II). Em particular, a matéria orgânica fermentável (glicose e extrato de levedura) leva a maiores concentrações de Fe em relação ao acetato, que não é fermentável.
4. Nos microcosmos de todos os ambientes, foi possível observar que, quanto maior a concentração de glicose e extrato de levedura adicionada, maiores as concentrações de Fe(II) dissolvido na fase líquida.
5. A diminuição do pH nos microcosmos adicionados de glicose sugere a participação de microrganismos fermentadores na redução do Fe.
6. No experimento longo de todos os rios, há um pico de Fe(II) nos primeiros meses seguido por uma queda gradual, indicando diminuição da disponibilidade do ferro biorredutível dos sedimentos com o tempo.
7. A influência antropogênica parece desempenhar um papel significativo nas concentrações de Fe(II) observadas nos microcosmos, visto que houve mobilização de maior quantidade de Fe(II) a partir dos sedimentos dos ambientes que dentre os seis eram os mais afetados pelas atividades humanas: os rios Tubarão, Itambacuri e Doce.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANA (2013). Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico. Atlas e Esgotos 2013. Despoluição das bacias hidrográficas. Situação atual. Disponível em: <https://www.ana.gov.br/atlasesgotos/>. Acesso em 04/06/2024.
2. Araújo, M.A., Pedroso, A.V., Amaral, D.C., Zinn, Y.L. (2014). Mineral assemblage of soils developed from different lithologies in southern minas gerais, brazil. *Revista brasileira de ciência do solo* 38, 11-25. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832014000100002>
3. Asta M.P., Ayora C., Roman-Ross G., Cama J., Acero P., Gault A.G., Charnock J.M., Bardelli F. (2010) Natural attenuation of arsenic in the Tinto Santa Rosa acid stream (Iberian Pyritic Belt, SW Spain): the role of iron precipitates. *Chem Geol* 271,1–12 <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.12.00>
4. Ayyasamy P.M., Chun S., Lee S. (2009). Desorption and dissolution of heavy metals from contaminated soil using *Shewanella* sp. (HN-41) amended with various carbon sources and synthetic soil organic matters. *J Hazard Mater.* 161(2-3), 1095-1102. <https://doi:10.1016/j.jhazmat.2008.04.063>
5. Baleeiro, A., Fiol, S., Otero-Fariña, A., Antelo, J. (2018). Surface chemistry of iron oxides formed by neutralization of acidic mine waters: Removal of trace metals. *Applied Geochemistry*, 89, 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.12.003>.
6. Baumgarten, M.N., L.F., Veeck, L. (2001). Nutrientes na coluna da água e na água intersticial de sedimentos de uma enseada rasa estuarina com aportes de origem antrópica (RS-Brasil). *Atlântica*. 23. 101-116. ISSN: 1679-3013
7. Bell, P.E., Mills, A.L., Herman, J.S. (1987). Biogeochemical conditions favoring magnetite formation during anaerobic iron reduction. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2610–2616. <https://doi.org/10.1128/aem.53.11.2610-2616.1987>.
8. Bento, L., Panisset, L.E.P, Rodrigues, S. (2015). Considerações sobre as cavernas quartzíticas do parque estadual do ibitipoca, minas gerais, brasil. *Caminhos de Geografia*. 16, 125-139. <https://doi.org/10.14393/RCG165429131>.
9. Brandelero, S. M., Miquelluti, D. J., Campos, M. L., Dors, P. (2017). Monitoramento de água e sedimento no Rio Palmeiras, Bacia Hidrográfica do Tubarão (SC), Brasil. *Engenharia Sanitária e Ambiental* 22, 203–212. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522016159344>.
10. Canani, L.G.C., Menezes, M., Torgan, L.C. (2011). Diatomáceas epilíticas de águas oligotróficas e ácidas do Sudeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 25(1), 130-140. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000100016>
11. Carmo, F.F., Kamino, L.H.Y, Tobias Junior, R., Campos, I.C., Carmo, F.F., Silvino, G., Castro, K.J.S.X., Mauro, M.L., Rodrigues, N.U.A., Miranda, M.P.S, Pinto, C.E.F. (2017). Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. *Perspectives in Ecology and Conservation* 15, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2017.06.002>.
12. Carvalho G.O., Pinheiro A.A., Sousa D.M., Padilha J.A., Souza J.S., Galvão P.M., Paiva T.C., Freire A.S., Santelli R.E., Malm O., Torres J.P.M. (2018). Metals and arsenic in water supply for riverine communities affected by the largest environmental disaster in Brazil: The dam collapse on Doce River. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry* 10, 299-307. <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v10i4.1081>
13. Castilhos, Z.C., Bidone, E.D., Cesar, R.G., Egler, S.G., Alexandre, N.Z., Bianchini, M., Nascimento, T. (2010). Metodologia para o monitoramento da qualidade das águas da Bacia Carbonífera Sul Catarinense: Ferramenta para gestão em poluição ambiental. *Série Gestão e Planejamento Ambiental* n. 13. CETEM/MCT, 2010.

14. Chanpiwat P., Sthiannopkao S., Cho K.H., Kim K.W., San V., Suvanthong B., Vongthavady C., (2011) Contamination by arsenic and other trace elements of tube-well water along the Mekong River in Lao PDR. *Environmental Pollution* 159, 567-576. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.007>
15. Chifflet, S., Quéméneur, M., Barani, A., Angeletti, B., Didry, M., Grégori, G., Pradel, N., 2019. Impact of sterilization methods on dissolved trace metals concentrations in complex natural samples: Optimization of UV irradiation. *MethodsX* 6, 1133-1146. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.04.020>.
16. Coblinski J.A., Inda A.V., Demattê J.A.M., Dotto A.C., Gholizadeh A., Giasson E. (2021). Identification of minerals in subtropical soils with different textural classes by VIS–NIR–SWIR reflectance spectroscopy. *CATENA* 203, 105334. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105334>
17. Cornell, R.M., Schwertmann, U., (2003). *The Iron Oxides: Structures, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, Second Edition, Wiley-VCH GmbH & Co, Weinheim, Germany.
18. Dias, H. C. T., Schaefer, C. E. G. R., Fernandes Filho, E. I., Oliveira, A. P., Michel, R. F. M., Lemos Jr., J. B.. (2003). Caracterização de solos altimontanos em dois transectos no Parque Estadual do Ibitipoca (MG). *Revista Brasileira De Ciênci.a Do Solo*, 27(3), 469–481. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000300009>.
19. Dias, H.C.T., Fernandes Filho, E.I., Schaefer, C.E.G.R., Fontes, L.E.F., Venterim, L.B. (2002). Geoambientes do Parque Estadual do Ibitipoca, município de Lima Duarte-MG. *Árvore*, 26(6), 777-786. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622002000600014>
20. Dong, Y., Sanford, R. A., Chang, Y., McInerney, M. J., Fouke, B. W., 2017, Hematite reduction buffers acid generation and enhances nutrient uptake by a fermentative iron reducing bacterium, *Orenia metallireducens* Strain Z6. *Environmental Science and Technology* 51, 232–242. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04126>
21. Duquesne, K., Lebrun, S., Casiot, C., Bruneel, O., Personné, J.-C., Leblanc, M., Elbaz-Poulichet, F., Morin, G., Bonnefoy, V. (2003) Immobilization of Arsenite and Ferric Iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and Its Relevance to Acid Mine Drainage. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6165–6173. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.10.6165-6173.2003>
22. Embrapa (2009). Elementos-traço e sua relação com qualidade e inocuidade de fertilizantes, corretivos agrícolas e resíduos orgânicos no Brasil. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2010/31582/1/doc-252.pdf>. Acesso em 19/07/2024
23. Esteves F.A., Marinho C.C. (2011) Carbono inorgânico. *Fundamentos de Limnologia*, 3ª Edição, Editora Interciência, pp. 209-238
24. Esther, J., Sukla, L.B., Pradhan, N., Panda, S. (2015). Fe(III) reduction strategies of dissimilatory iron reducing bacteria. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 32, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11814-014-0286-x>.
25. Fitzgerald, L.A., Petersen, E.R., Ray, R.I., Little, B.J., Cooper, C.J., Howard, E.C., Ringeisen, B.R., Biffinger, J.C. (2012). *Shewanella oneidensis* MR-1 Msh pilin proteins are involved in extracellular electron transfer in microbial fuel cells. *Process Biochemistry*. 47, 170-174. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.10.029>.
26. Frachini E., Ferreira, C.S.R., Kroetz, B.L., Urbano, A., Abrão, T., Santos, M.J. (2021). Modeling the kinetics of potentially toxic elements desorption in sediment affected by a dam breakdown disaster in Doce River – Brazil. *Chemosphere* 283, 131157. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131157>
27. GeoSGB (Sistema de geociências do Serviço Geológico do Brasil - CPRM) Unidades litoestratigráficas - 1:1.000.000 (2004). ArcGIS Web Application. Disponível em: < <https://geoportal.sgb.gov.br/geosgb/> >. Acesso em: 26 ago. 2024.

28. Gonçalves, M.J.S. (2015). Distribuição de cloretos na bacia hidrográfica do Rio Paraguaçu, Bahia, Brasil. *Cadernos de Geociências*. 12(1-2), 25-33. Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado da Bahia – INEMA, Universidade Estadual de Feira de Santana <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/29900>
29. Gounou, C., Bousserhine, N., Varrault, G., et al. (2010). Influence of the Iron-Reducing Bacteria on the Release of Heavy Metals in Anaerobic River Sediment. *Water, Air, & Soil Pollution*, 212, 123-139. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0327-y>.
30. Guilherme, P., Borzone, C., Bueno, M., Lamour, M. (2015). Análise granulométrica de sedimentos arenosos de praias através de imagens digitais. Descrição de um protocolo de mensuração de partículas no software ImageJ - Fiji.. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*. 19. <https://doi.org/10.14210/bjast.v19n2.6874>.
31. Guimarães, T., Santos, R., Bomfim, T., Carvalho, D., Oliveira, E. (2023) Caracterização fisiográfica da Bacia do Paraguaçu, Bahia : considerações iniciais. Resumo. In *Anais do IV SRHPS - Simpósio de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Paraíba do Sul*. Campo dos Goytacazes, RJ. Disponível em: <https://anais.abrhidro.org.br/job.php?Job=14656>. Acesso em: 24 abril 2024.
32. Hrselová P., Sracek O., Filip V., Malý K. (2024) The role of jarosite minerals in the attenuation of metals and arsenic in mine drainage system (example from the Pekelská Adit, Czech Republic). *Journal of Geosciences*, 69: 99–111. <https://doi.org/10.3190/jgeosci.390>
33. IBGE (2020) - Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Estimativas da população residente com data de referência 1º de julho de 2020.
34. Kappler A, Bryce C, Mansor M, Lueder U, Byrne JM, Swanner ED. (2021). An evolving view on biogeochemical cycling of iron. *Nat Rev Microbiol*. 19(6),360-374. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00502-7>.
35. Kappler, A., Straub, K.L. (2005). Geomicrobiological Cycling of Iron. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 59. 85-108. <https://doi.org/10.2138/rmg.2005.59.5>.
36. Keim, C.N., Serna, J.D.P., Acosta-Avalos, D., Neumann, R., Silva, A.S., Jurelevicius, D.A., Pereira, R.S., de Souza, P.M., Seldin, L., Farina, M. (2021). Dissimilatory iron-reducing microorganisms are present and active in the sediments of the Doce River and tributaries impacted by iron mine tailings from the collapsed Fundão Dam (Mariana, MG, Brazil). *Minerals* 11, 244. <https://doi.org/10.3390/min11030244>
37. Kim, B., Gadd, G. (2008). Anaerobic respiration. In: *Bacterial Physiology and Metabolism* (pp. 298-353). Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511790461.010>
38. Kraemer S.M., Butler A., Borer P., Cervini-Silva J. (2005) Siderophores and the dissolution of iron-bearing minerals in marine systems. *Rev Mineral Geochem* 59, 53-84. <https://doi.org/10.2138/rmg.2005.59.4>
39. Küsel, K., Dorsch, T. (2000). Effect of Supplemental Electron Donors on the Microbial Reduction of Fe(III), Sulfate, and CO₂ in Coal Mining–Impacted Freshwater Lake Sediments. *Microb Ecol* 40, 238–249. <https://doi.org/10.1007/s002480000065>
40. Kwon M.J., O’Loughlin E.J., Boyanov M.I., Brulc J.M., Johnston E.R., Kemner K.M. (2016) Impact of Organic Carbon Electron Donors on Microbial Community Development under Iron- and Sulfate-Reducing Conditions. *PLoS ONE* 11(1): e0146689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146689>
41. Laureano, F. V. (1998). O registro sedimentar clástico associado aos sistemas de cavernas Lapa Doce e Torrinha, Município de Iraquara, Chapada Diamantina (BA). Master's Dissertation, Instituto de Geociências, University of São Paulo, São Paulo. doi:10.11606/D.44.1998.tde-22042013-164416. Retrieved 2024-12-04, em www.teses.usp.br
42. Lehninger, T. M., Nelson, D. L., Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica*. 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

43. Lentini, C.J., Wankel, S.D., Hansel, C.M., 2012, Enriched iron(III)-reducing bacterial communities are shaped by carbon substrate and iron oxide mineralogy. *Frontiers in Microbiology* 3: 404. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00404>
44. Li, X., Zeng, X., Qiu, D., Zhang, Z., Chen, J., Shao, Z., 2019, Dissimilatory iron [Fe(III)] reduction by a novel fermentative, piezophilic bacterium *Anoxybacter fermentans* DY22613T isolated from East Pacific Rise hydrothermal sulfides. *Geomicrobiology Journal*, 36, 291-302. <https://doi.org/10.1080/01490451.2018.1526985> List, C., Hosseini, Z., Lederballe Meibom, K., Hatzimanikatis, V., Bernier-Latmani, R. (2019). Impact of iron reduction on the metabolism of *Clostridium acetobutylicum*. *Environmental Microbiology*, 21(10), 3548–3563. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14640>
45. Lovley, Derek R., Elizabeth J. P. Phillips. 1988. Novel Mode of Microbial Energy Metabolism: Organic Carbon Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 1472 - 1480. <https://doi.org/10.1128/aem.54.6.1472-1480.1988>
46. Lovley. D.R. (1987). Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron: A review. *Geomicrobiological Journal* 5, 375-399. <https://doi.org/0149-0451/87/03375-0053.00/0>
47. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H. e Stahl, D.A. (2016). *Microbiologia de Brock*, In: *Ecologia microbiana e microbiologia ambiental*, In: *Ciclo dos nutrientes*. 14ª eds. pg. 639-642
48. Malczewska B., Czaban S., Jawecki B. 2018. Occurrence of iron, manganese, and selected trace elements in water from household wells exposed to the impact of a mining area. *J. Elem.*, 23(4): 1319-1329. <https://doi.org/10.5601/jelem.2017.22.4.1547>
49. Melton, E., Swanner, E., Behrens, S., Schmidt, C., Kappler, A. (2014). The interplay of microbially mediated and abiotic reactions in the biogeochemical Fe cycle. *Nat Rev Microbiol* 12, 797–808 (2014). <https://doi.org/10.1038/nrmicro3347>
50. Mourão, A.O., Santos, M.S., da Costa, A.S.V., da Silva, H.T., Maia, L.F.O., Faria, M.C.S., Rodriguez, M.V.R., Rodrigues, J.L. (2023). Assessment of Health Risk and Presence of Metals in Water and Fish Samples from Doce River, Brazil, After Fundão Dam Collapse. *Arch Environ Contam Toxicol* 84, 377–388. <https://doi.org/10.1007/s00244-023-00991-6>
51. Musyanovych, V.M., Bilyi, O.I., Gudz, N.I., Zdyrko, A.V., 2000. Process of thermal destruction of glucose in consequence of sterilization in autoclave in the biopharmaceutical manufacturing. *Proc. SPIE* 3926, *Advances in Nucleic Acid and Protein Analyses, Manipulation, and Sequencing*. <https://doi.org/10.1117/12.3805>
52. Negrea, S. (2004). Trajan Orghidan (1917-1985)- A distinguished romanian hydrobiologist and biospeleologist. *Travaux de l'Institut de Spéologie "Émile Racovitza"*, volume 43-44.
53. Nordstrom D. K. 2011. Mine Waters: Acidic to Circumneutral. *Elements* 7(6): 393–398. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.6.393>
54. Otte, J.M., Blackwell, N., Soos, V., Rughöft, S., Maisch, M., Kappler, A., Kleindienst, S., Schmidt, C., 2018. Sterilization impacts on marine sediment – Are we able to inactivate microorganisms in environmental samples? *FEMS Microbiol. Ecol.* 94, fyy189. <https://doi.org/10.1093/femsec/fyy189>
55. Queiroz, H.M., Nóbrega, G.N., Ferreira, T.O., Almeida, L.S., Romero, T.B., Santaella, S.T., Bernardino, A.F., Otero, X.L. (2018). The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination? *Sci. Total Environ.* 637–638: 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.370>
56. Richard E.C., Duarte H.A. Jr, Estrada G.C.D., Bechtold J.P., Gusso Maioli B., de Freitas A.H.A., Warner K.E., Figueiredo L.H.M. (2020) Influence of Fundão tailings dam breach on water quality in the Doce River Watershed. *Integrated Environmental Assessment and Management* 16: 583–595. <https://doi.org/10.1002/ieam.4311>

57. Ross D.E., Brantley S.L., Tien M. (2009). Kinetic characterization of OmcA and MtrC, terminal reductases involved in respiratory electron transfer for dissimilatory iron reduction in *Shewanella oneidensis* MR-1. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(16):5218-5226. <https://doi.org/10.1128/aem.00544-09>
58. Ruby M.V., Schoof R., Brattin W., Goldade M., Post G., Harnois M., Mosby D.E., Casteel S.W., Berti W, Carpenter M., Edwards D., Cragin D., Chappell W. (1999). Advances in Evaluating the Oral Bioavailability of Inorganics in Soil for Use in Human Health Risk Assessment. *Environmental Science & Technology* 33: 3697-3705. <https://doi.org/10.1021/es990479z>
59. Sanjad, P.M. (2021). Ação dos microrganismos heterotróficos nativos do Rio Paraopeba na dissolução redutiva do ferro, em sedimentos de fundo de trechos atingidos ou não pelo rejeito de mineração da barragem I da mina de Córrego do Feijão (Brumadinho, MG) [Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio de Janeiro]. Repositório Institucional Pantheon.
60. Santos A.S., Braz, B.F., Sanjad, P., Cruz, A.C.R., Crapez, M.A.C., Neumann, R., Santelli, R.E., Keim, C.N., (2023). Role of indigenous microorganisms and organics in the release of iron and trace elements from sediments impacted by iron mine tailings from failed Fundão dam. *Environmental Research* 220, 115143. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.115143>
61. Santos, A. S. (2019). Influência de microrganismos e matéria orgânica na dissolução redutiva de ferro e manganês nos rios Doce e Gualaxo do Norte [Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio de Janeiro]. Repositório Institucional Pantheon.
62. Santos, O.S.H., Avellar F.C., Alves M., Trindade R.C., Menezes M. B., Ferreira M.C., França G.S., Cordeiro J., Sobreira F.G., Yoshida I.M., Moura P.M., Baptista M.B., Scotti M.R. (2019). Understanding the Environmental Impact of a Mine Dam Rupture in Brazil: Prospects for Remediation. *Journal of Environmental Quality* 48: 439-449. <https://doi.org/10.2134/jeq2018.04.0168>
63. Souza, V. L. B., Lima, V. L., Hazin, C. A., Fonseca, C. K. L., Santos, S. O. (2015). Biodisponibilidade de Metais-traço em Sedimentos: Uma Revisão. *Brazilian Journal of Radiation Sciences*, 3(1A). <https://doi.org/10.15392/bjrs.v3i1A.135>
64. Su, C., Zhang, M., Lin, L., Yu, G., Zhong, H., Chong, Y., 2020. Reduction of iron oxides and microbial community composition in iron-rich soils with different organic carbon as electron donors. *International Biodeterioration & Biodegradation* 148 104881. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104881>
65. Taylor, K.G., Konhauser, K.O.(2011). Iron in Earth Surface Systems: A Major Player in Chemical and Biological Processes. *Elements* 7: 83-88. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.2.83>
66. Tebo, B.M., Bargar, J.R., Clement, B.G., Dick, G.J., Murray, K.J., Parker, D., Verity, R. Webb, S.M., (2004). Biogenic manganese oxides: Properties and mechanisms of formation. *Ann. Rev. Earth Planet. Sci.* 32, 287-328. <https://doi.org/10.1146/annurev.earth.32.101802.120213>
67. Teramoto EH, Gemeiner H, Zanatta MBT, Menegário AA, Chang HK. 2021. Metal speciation of the Paraopeba river after the Brumadinho dam failure. *Science of the Total Environment* 757 (2021) 143917 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143917>
68. Valeriano, C.M., Neumann, R., Alkmim, A.R., Evangelista, H., Heilbron, M., Aguiar Neto, C.C., Souza, G.P., 2019. Sm-Nd and Sr isotope fingerprinting of iron mining tailing deposits spilled from the failed SAMARCO Fundão dam 2015 accident at Mariana, SE-Brazil. *Appl. Geochem*: 106, 34-44. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.04.021>.
69. Viollier, E., Inglett, P.W., Hunter, K., Roychoudhury, A.N., Van Cappellen, P. (2000). The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters. *Applied Geochemistry*, v. 15, p. 785-790. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00097-9](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00097-9).
70. Williams, D.D. (1993). Nutrient and flow vector dynamics at the hyporheic/groundwater interface and their effects on the interstitial fauna. *Hydrobiologia* 251: 185-198. <https://doi.org/10.1007/BF00007178>

71. Zachara, J.M., Fredrickson, J.K., Li, S-M., Kennedy, D.W., Smith, S.C., Gassman, P.L. (1998). Bacterial reduction of crystalline Fe³⁺ oxides in single phase suspensions and subsurface materials. *American Mineralogist*, 83, 1426-1443. <https://doi.org/10.2138/am-1998-11-1232>