



QUALIDADE DAS ÁGUAS E DIVERSIDADE MICROBIANA DO RIO DOCE
APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DO FUNDÃO

Marcelle Candido Cordeiro

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Produção.

Orientadores: Fabiano Lopes Thompson
Gizele Duarte Garcia

Rio de Janeiro
Março de 2018

QUALIDADE DAS ÁGUAS E DIVERSIDADE MICROBIANA DO RIO DOCE APÓS
O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DO FUNDÃO

Marcelle Candido Cordeiro

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA
(COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA DE PRODUÇÃO.

Examinada por:

Prof. Fabiano Lopes Thompson D. Sc.

Prof. Gizele Duarte Garcia D. Sc.

Prof. Carlos Alberto Nunes Cosenza, D. Sc.

Prof. Carlos Eduardo de Rezende, D. Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2018

Cordeiro, Marcelle Candido

Qualidade das águas e diversidade microbiana do Rio Doce após o rompimento da barragem do Fundão/
Marcelle Candido Cordeiro. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2018.

XVI, 73 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Fabiano Lopes Thompson

Gizele Duarte Garcia

Dissertação (mestrado) - UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia de Produção, 2018.

Referências Bibliográficas: p. 52-61

1. Rio Doce. 2. Qualidade da água. 3. Bioindicador. 4. Metagenoma. I. Thompson, Fabiano Lopes *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia de Produção. III. Título.

DEDICATÓRIAS

Ao professor Rogério Vale por seu acolhimento e carinho. Por tratar a todos os seus alunos como verdadeiros amigos, sua memória sempre viverá em nossos corações.

À Haydeê Coelho Candido, minha vó, por seu seus ensinamentos e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor Deus por sua infinita misericórdia e compaixão;

Agradeço aos meus orientadores, Fabiano Thompson e Gizele Garcia, por sua paciência e dedicação em transmitir conhecimento;

Agradeço a todos aqueles que gentilmente contribuíram com o seu conhecimento para essa pesquisa, em especial Luciana Leomil, Luciana Reis e Diogo Tschoeke;

Agradeço ao CNPq, à CAPES e à FAPERJ por terem financiado esta dissertação;

Agradeço à banca examinadora por apreciar este documento;

Agradeço aos amigos que fiz durante o mestrado, em especial Ana Carolina Maia, por seus conselhos e apoio;

Agradeço aos companheiros do SAGE, por todos os momentos maravilhosos que compartilhamos nesses dois anos;

Agradeço aos meus pais, Jurema José Candido Cordeiro e Cesar Augusto do Lago Cordeiro, e a minha irmã, Nathalia Candido Cordeiro, pelo incentivo e apoio que sempre me deram.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

QUALIDADE DAS ÁGUAS E DIVERSIDADE MICROBIANA DO RIO DOCE APÓS O ROMPIMENTO DA BARRAGEM DO FUNDÃO

Marcelle Candido Cordeiro

Março/2018

Orientador: Fabiano Lopes Thompson

Gizele Duarte Garcia

Programa: Engenharia de Produção

Em 5 de novembro de 2015, a barragem do Fundão, localizada em Minas Gerais, Brasil, rompeu liberando nas águas do Rio Doce entre 50 e 60 milhões de metros cúbicos de rejeitos de minério de ferro. Amostras de água coletada no mês do derramamento (nov/2015), após 4 meses (abr/2016) e 9 meses depois (set/2016) foram analisadas para a investigação de possíveis alterações na qualidade das águas e na diversidade da microbiota da região decorrentes do desastre. O principal efeito identificado do desastre sobre a qualidade das águas foi o aumento imediato dos níveis de turbidez (~36 vezes superior à CONAMA 357 na coleta de nov/2015). No mesmo período, o grupo *Actinobacteria*, associado à composição de solos, encontrava-se aumentado em ~ 2 vezes em relação à abr/2016 e set/2016 e ao Rio Paraguaçu, um rio brasileiro sem histórico de poluição por mineração. Ademais, mesmo 1 ano após o desastre, houve o aumento dos níveis de turbidez acima da Resolução CONAMA 357, e das médias históricas durante a estação de chuvas em dez/2016 (base de dados pública do IGAM).

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

QUALITY OF WATERS AND MICROBIAL DIVERSITY OF THE DOCE RIVER
AFTER THE BREAKING OF FUNDÃO DAM

Marcelle Candido Cordeiro

March/2018

Advisors: Fabiano Lopes Thompson

Gizele Duarte Garcia

Department: Production Engineering

On November 5th, 2015, the Fundão tailing dam, located in Minas Gerais, Brazil, ruptured, releasing between 50 and 60 million cubic meters of ore tailing into the Doce River. Samples of water collected in the month of the spill (Nov/2015), after 4 months (Apr/2016) and 9 months later (Sept/2016) were analyzed to investigate possible changes in water quality and microbial diversity resulting from the disaster. The main immediate effect of the disaster on water quality identified was the increase in turbidity levels (on Nov/2015 it was ~ 36 times higher than recommended Brazilian Legislation). In the same period, the group *Actinobacteria*, a taxon usually associated with soil composition, was increased in relation to Apr/2016 and Sep/2016 and to Paraguaçu River, an environment without mining historic. Nevertheless, 1 year after the disaster, there was an increase of turbidity levels above the water quality legislation, CONAMA 357, and the historical averages in the rainy season on dez/2016 (IGAM public database).

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E FINALIDADE DA PESQUISA	1
1.1. Organização do trabalho	1
1.2. Contextualização do problema	2
1.3. Mineração	4
1.3.1. Relevância para economia brasileira	4
1.3.2. Descarte dos rejeitos de minério	5
1.3.3. Histórico de desastres envolvendo barragens de minério	7
1.3.4. Barragens de mineração em estado de alerta em Minas Gerais	9
1.4. Bacia Hidrográfica do Rio Doce e o desastre do Fundão	10
1.4.1. Características gerais da bacia	10
1.4.2. O rompimento da barragem de rejeitos do Fundão	12
1.4.2.1. Contextualização quanto às causas do desastre	14
1.4.2.2. Contextualização quanto aos impactos do desastre	17
1.5. Objetivos	18
1.6. Relevância da pesquisa	19
CAPÍTULO 2 – REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1. Legislação ambiental	21
2.2. Contaminação do meio aquático	22
2.2.1. Indicadores físico-químicos como métricas de qualidade das águas	23
2.3. O uso de bioindicadores para investigar o impacto das ações antrópicas sobre os seres vivos	25
2.3.1. O uso de microrganismos para caracterização de rios brasileiros	26
2.3.2. As cianobactérias e o aumento de poluentes na água	27
2.4. Análise dos bioindicadores por meio de técnicas metagenômicas	28
CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	30
3.1. Região de estudo na Bacia Hidrográfica do Rio Doce (BHRD)	30
3.2. Procedimentos adotados para coleta e processamento de material obtido em campo	30
3.2.1. Procedimentos para análise dos dados físico-químicos coletados em campo	31
3.2.2. Extração de DNA metagenômico das amostras de água doce	32

3.2.3. Construção e sequenciamento da biblioteca Illumina dos metagenomas do RD	32
3.3. Escolha de um rio brasileiro não impactado por atividade de mineração como controle	32
3.4. Análises computacionais dos metagenomas do RD e do PAR	33
3.5. Base de dados limnológica aberta da Bacia do Rio Doce	34
3.5.1. Análises estatísticas	34
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS	36
4.1. Análises físico-químicas das amostras do RD coletadas em campo	36
4.2. Análise dos dados de monitoramento limnológico do IGAM antes e após o desastre	38
4.3. Análise metagenômica comparativa entre as amostras do RD ao longo do tempo e em relação ao PAR	40
4.3.1. Características gerais das sequências metagenômicas do Rio Doce	40
4.3.2. Perfil taxonômico	41
4.3.2.1. Características gerais do domínio <i>Bacteria</i> no RD ao longo das coletas	41
4.3.2.2. Análise metagenômica comparativa entre o RD e o PAR	42
4.3.3. Perfil metabólico	44
CAPÍTULO 5 – DISCUSSÃO	46
5.1. Implicações do rompimento da barragem do Fundão sobre a qualidade da água	46
5.2. Análise metagenômica comparativa entre as amostras do RD ao longo do tempo e em relação ao PAR	48
5.2.1. Perfil taxonômico	48
5.2.2. Análise do potencial funcional do RD e do PAR	49
CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
APÊNDICE A: Técnicas metagenômicas para análise de diversidade microbiana	62
A1. Princípios da biologia molecular	62
A1.1. Genoma	62
A2. Roteiro de trabalho de uma análise metagenômica	63
A2.1. Amostragem e anotação dos metadados em campo	63
A2.1 Amplificação do material genético obtido em campo por PCR	64

A2.2 Sequenciamento	64
A2.3 Montagem do genoma	66
A2.4. Predição de genes	67
A2.5. Classificação	67
A2.6. Anotação funcional	68
APÊNDICE B: Fotografias da primeira coleta em nov/2015	69
APÊNDICE C: Resultados físico-químicos da base dados limnológica do IGAM	70
APÊNDICE D: Citometria de fluxo	72
APÊNDICE E: Trabalhos iniciados no mestrado	73
E1.Artigo 1 (autor principal)	73
E2.Artigo 2 (co-autor)	73
E3.Artigo 3 (autor principal)	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Localização dos principais depósitos minerais nos estados brasileiros	4
Figura 2 Métodos de construção de barragem: (a) jusante; (b) linha de centro; (c) montante	5
Figura 3 Condições de estabilidade das barragens de rejeitos de minério do estado de Minas Gerais nos anos de 2014, 2015 e 2016	10
Figura 4 Localização da Bacia Hidrográfica do Rio Doce no território brasileiro.....	11
Figura 5 Percorso percorrido pela lama na BHRD após a ruptura da barragem da Samarco.....	13
Figura 6 Layout original da construção da barragem do Fundão pelo método a montante	14
Figura 7 Processos de transporte e transformação de contaminantes no ambiente aquático	23
Figura 8 Representação gráfica da relação entre a concentração do elemento e seu efeito no organismo	24
Figura 9 Análise de componentes principais (ACP) usando dados históricos do IGAM anteriores a ruptura da Barragem do Fundão (os meses de 2014 e o intervalo entre Jan/2015 e Out/2015) e pós-desastre (Dez/2015 e os meses de 2016) para os parâmetros turbidez (Turb), pH, oxigênio dissolvido (O ₂), condutividade elétrica (Cond), sólidos dissolvidos totais (SDT), sólidos em suspensão totais (SST), arsênio total (As), alumínio dissolvido (Al), cobre dissolvido (Cu), ferro dissolvido (Fe), cromo total (Cr), cádmio total (Cd), chumbo total (Pb), manganês total (Mn), mercúrio total (Hg) e níquel total (Ni) nos municípios de Aimorés, Governador Valadares, Resplendor e Ipatinga. Os dois eixos da ACP têm um poder explicativo de ~68%.....	38
Figura 10 Classificação taxonômica dos grupos bacterianos a partir da análise dos metagenomas das amostras de água do RD nas coletas de nov/2015, abr/2016 e set/2016. Os pontos amostrados em Bento Rodrigues (B. R.), Gualaxo (Gua), Rio do Carmo (Car), Governador Valadares (GV), Tumiritinga (Tum), Resplendor (Res), Baixo Guandu (B Gua), Mascarenhas (Mas), Colatina (Col) e Linhares (Lin) estão organizados pela distância em relação à região do rompimento da barragem do Fundão e as coletas estão discriminadas no eixo vertical. A) Abundância relativa dos filos dominantes. B) Abundância relativa das famílias dominantes.	42

Figura 11 Abundância relativa dos três principais filos no RD e no PAR (<i>Proteobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> e <i>Actinobacteria</i>) e do filo <i>Cyanobacteria</i> que apresentou alta representatividade na coleta de set/2016 no RD. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015. Abr/2016 e set/2016.....	43
Figura 12 Abundância das sete classes dominantes no RD e identificação dos respectivos filos associados a essas classes. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015, abr/2016 e set/2016.....	43
Figura 13 Abundância relativa das dez famílias dominantes no RD. Identificação das ordens e classes associadas a essas famílias. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015. Abr/2016 e set/2016.	44
Figura 14 Diversidade funcional dos subsistemas metabólicos do RD que apresentaram as maiores diferenças ao longo das coletas e em relação ao PAR. Classificação feita por intermédio do banco de dados nível 1 do SEED do software MEGAN. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015. Abr/2016 e set/2016. A) Os seis subsistemas mais importantes. B) Do sétimo ao décimo segundo subsistemas mais relevantes.....	45

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Revisão bibliográfica sintetizada dos principais desastres envolvendo barragens de minério no mundo	7
Tabela 2 Revisão bibliográfica sintetizada dos principais desastres envolvendo barragens de minério em Minas Gerais.....	8
Tabela 3 Impactos ambientais do rompimento da barragem do Fundão nas subcategorias ambientais: água, solo e biodiversidade.....	17
Tabela 4 Principais trabalhos publicados em periódicos acerca das causas e desdobramentos do desastre do Fundão.....	19
Tabela 5 Enquadramento de água doce de acordo com o uso preponderante previsto na Resolução CONAMA 357.....	22
Tabela 6 Municípios da BHRD em que as coletas em campo foram realizadas nos meses de nov/15, abr/16 e set/16. Municípios monitorados pelo IGAM e que foram usados para traçar o perfil pré-derramamento do Rio Doce.	30
Tabela 7 Distância dos municípios selecionados na base de dados do IGAM aos pontos correspondentes coletados em campo	34
Tabela 8 Parâmetros físico-químicos que apresentaram variação entre as coletas de nov/2015, abr/2016 e set/2016 nas regiões de Bento Rodrigues (B R), Rio Gualaxo (Gua), Rio do Carmo (Car), Governador Valadares (GV), Tumiritinga (Tum), Resplendor (Res), Baixo Guandu (B Gua), Mascarenhas (Mas), Colatina (Col) e Linhares (Lin).....	37
Tabela 9 Características gerais das sequências metagenômicas do Rio Doce nas coletas de nov/2015, abr/2016 e set/2016.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Análise de componentes principais
Ai	Aimorés
Al	Alumínio
APS	Adenosine 5'-phosphosulfate
As	Arsênio
ATP	Adenosina trifosfato
BDA	Banco de Declarações Ambientais
B Gua	Baixo Guandu
BHRD	Bacia Hidrográfica do Rio Doce
B. R.	Bento Rodrigues
Cd	Cádmio
Car	Rio do Carmo
Co	Cobalto
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
Col	Colatina
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COP	Carbono Orgânico Particulado
CP	Componentes Principais
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DCE	Declaração de Condição de Estabilidade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EIA	Estudo de Impacto Ambiental
Fe	Ferro

FEAM	Fundação Estadual do Meio Ambiente
Gua	Rio Gualaxo
GV	Governador Valadares
Hg	Mercúrio
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais
IGAM	Instituto de Gestão das Águas de Minas Gerais.
Ipa	Ipatinga
LCA	Laboratório de Ciências Ambientais
Lin	Linhares
Mas	Mascarenhas
MMA	Ministério do Meio Ambiente
Mn	Manganês
MPS	Material Particulado em Suspensão
Ni	Níquel
NTD	Nitrogênio total dissolvido
NCBI	National Center for Biotechnology Information Search database
NTP	Nitrogênio Total Particulado
O2	Oxigênio
PAR	Rio Paraguaçu
Pb	Chumbo
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PIB	Produto Interno Bruto
PPi	Pirofosfato
RD	Rio Doce
RefSeq	Banco de dados de sequências de referência
Res	Resplendor
RIMA	Relatório de Impacto do Meio Ambiente

RNA	Ácido ribonucleico
SAGE	Núcleo Prof. Rogério Valle de Produção Sustentável
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
SST	Sólidos em Suspensão Totais
SEDRU	Secretaria de Estado de Desenvolvimento Regional, Política Urbana e Gestão Metropolitana
SEMAD	Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável
SISNAMA	Sistema Nacional do Meio Ambiente
Tum	Tumiritinga
Turb	Turbidez
UENF	Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
V	Vanádio
Zn	Zinco

CAPÍTULO 1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E FINALIDADE DA PESQUISA

1.1. Organização do trabalho

Esta dissertação está organizada em seis capítulos: Capítulo 1 – Contextualização do problema e finalidade da pesquisa, Capítulo 2 – Referencial Teórico, Capítulo 3 – Procedimentos Metodológicos, Capítulo 4 – Resultados, Capítulo 5 – Discussão e Capítulo 6 – Considerações Finais.

O Capítulo 1 possui dois propósitos centrais: situar o leitor quanto ao papel da mineração na economia brasileira, aos fatos que desencadearam o rompimento da barragem do Fundão e a complexidade do tema estudado (sessões 1.2 a 1.4) e apresentar os objetivos da dissertação e a sua relevância em relação ao conhecimento já produzido sobre o tema (sessões 1.5 e 1.6).

O Capítulo 2 apresenta o referencial teórico resultante de uma pesquisa bibliográfica detalhando os conceitos centrais que servirão de embasamento para a metodologia, os resultados e as discussões desta dissertação.

As etapas de desenvolvimento deste trabalho estão contempladas no Capítulo 3, onde são apresentados: as regiões amostradas nas coletas realizadas em nov/2015, abr/2016 e set/2016, bem como os procedimentos de coleta em campo dos dados taxonômicos e de potencial funcional dos metagenomas e dos dados físico-químicos relativos às amostras de água do Rio Doce. A análise computacional dos dados metagenômicos do Rio Doce e do Rio Paraguaçu (adotado como referencial de controle de um rio sem histórico de atividade de mineração) constam também descritos nesse capítulo. Além disso, são expostas as técnicas usadas mineração e análise dos dados de origem secundária pertencentes à base dados limnológica pública do Instituto de Gestão das Águas de Minas Gerais (IGAM).

O capítulo 4 expõe os resultados metagenômicos obtidos no Rio Doce ao longo das coletas, bem como os resultados comparativos entre os metagenomas do Rio Doce e do Rio Paraguaçu, destacando as principais diferenças entre os dois rios. Os valores dos parâmetros físico-químicos das amostras de água obtidas nas três coletas em campo

após o desastre e o perfil físico-químico identificado pelo monitoramento do IGAM do ano 2000 até 2016 são também apresentados.

O Capítulo 5 traz a discussão dos resultados expostos no capítulo anterior com base na literatura vigente, de modo a auxiliar a interpretação dos achados desta pesquisa e elucidar as questões propostas nos objetivos gerais:

Por fim, no Capítulo 6 são feitas as considerações finais e apresentadas as conclusões deste trabalho.

As referências bibliográficas e os apêndices contendo informações adicionais para compreensão dos resultados desta dissertação são apresentados em seguida.

No Apêndice A são introduzidos os conceitos centrais em biologia molecular, bem como o referencial teórico para a utilização de técnicas metagenômicas.

O Apêndice B retrata o local em que foram feitas as coletas em campo em Nov/2015. As fotografias ilustram a situação do Rio Doce logo após o derramamento

O apêndice C traz os resultados físico-químicos da base dados limnológica do IGAM para os parâmetros turbidez, O₂ dissolvido, SDT, SST, As total, Al dissolvido, Cu dissolvido, Fe dissolvido, Cr total, Cd total, Pb total, Mn total, Hg total e Ni total em quatro diferentes momentos (antes do derramamento; nos meses de dez/2015 e jan/2016; no período entre fev/2016 e nov/2016 e no mês de dez/2016) nos municípios de Ipatinga (Ipa), Governador Valadares (GV), Resplendor (Res) e Aimorés (Ai). O objetivo dessa seção é apresentar o perfil físico-químico anterior e posterior ao derramamento de forma mais detalhada.

O Apêndice D traz uma breve descrição dos procedimentos adotados na técnica de citometria de fluxo e os resultados dessa análise para coleta de set/2016 no Rio Doce.

Por último, o Apêndice E traz todos os trabalhos relativos ao Rio Doce em que a autora se envolveu durante o mestrado. Essa seção busca fornecer uma visão dos frutos da pesquisa iniciada com a elaboração dessa dissertação.

1.2. Contextualização do problema

A natureza possui um complexo equilíbrio dinâmico que permite que os elementos bióticos e abióticos dos ecossistemas interajam entre si e com elementos externos de modo a possibilitar a sobrevivência harmoniosa dos seres vivos. Até certo ponto, os ecossistemas são autorreguláveis, de maneira que as perturbações tanto de origem interna quanto externa não consigam desestabilizá-los (ODUM, 2001).

O problema é quando o nível de perturbações transpassa a capacidade de regeneração da natureza, criando desastres ambientais que ameaçam tanto a sobrevivência humana quanto a das demais espécies. Nesse sentido, as atividades antrópicas que envolvem o consumo desenfreado dos recursos naturais e a geração de enormes quantidades de rejeitos têm se mostrado uma grande ameaça (PERMAN *et al.*, 2003)

Um exemplo desse tipo de atividade é a mineração. Acidentes envolvendo barragens de minério implicam em mudanças das condições físico-químicas e biológicas do meio, muitas vezes de forma irreversível, conforme evidenciado pela história. No desastre de Aznalcóllar na Espanha, por exemplo, os gastos com medidas de remediação dos impactos ambientais alcançaram a volumosa quantia de aproximadamente €147 milhões. Na Romênia, o desastre de Baia Mare comprometeu o abastecimento de água de mais de 2 milhões de pessoas. Além disso, cabe destacar os prejuízos irreparáveis à vida humana, no desastre de Stava, na Itália, por exemplo, foram 268 mortos (DAVIES, 2002).

No Brasil, o maior desastre envolvendo barragens de mineração foi o rompimento da barragem de rejeitos do Fundão, em 5 de novembro de 2015, no Distrito de Bento Rodrigues, na cidade Mariana, em Minas Gerais. Esse rompimento liberou no meio ambiente entre 50 e 60 milhões de metros cúbicos de rejeitos de minério (SEGURA *et al.*, 2016). Por conta de suas dimensões, este desastre alcançou o patamar de maior desastre envolvendo barragens do mundo tanto em relação ao volume de rejeitos como em relação à extensão geográfica dos impactos, 668 km de rio foram poluídos (CARMO *et al.*, 2017). O distrito de Bento Rodrigues foi completamente destruído pela lama e aproximadamente 1469 ha de vegetação natural foram afetados. Além disso, os impactos ecológicos do desastre comprometeram os meios de subsistência de mais de 1 milhão de pessoas (FERNANDES *et al.*, 2016).

Ademais, existe o risco de novas catástrofes de grandes proporções envolvendo barragens de rejeitos no Brasil. Antes da ruptura, o risco de acidente da barragem do Fundão era classificado como baixo, apesar dos indícios de problemas na estrutura da barragem. No Brasil, apenas 8% das barragens de rejeitos são classificadas como alto risco. O desastre do Fundão reacendeu um alerta de que o risco real de rompimento dessas barragens pode ser bem mais elevado, tendo em vista que parte dessas estruturas também podem ter tido seu risco subestimado. Das 662 barragens de rejeitos brasileiras, 126 correm o risco de apresentar falhas (Garcia *et al.*, 2017). Apenas em Minas Gerais,

mais de 40 barragens estão instáveis e operam no limite de capacidade (Meira *et al.*, 2016).

1.3. Mineração

1.3.1. Relevância para economia brasileira

A mineração apresenta grande importância na economia brasileira. No ano de 2014, 5% do PIB industrial brasileiro foi oriundo do setor de mineração, o equivalente a US\$ 40 bilhões. Nesse mesmo ano, apenas as exportações de minério de ferro foram responsáveis pelo ganho de US\$ 25,8 bilhões. Nesse sentido, a região sudeste apresenta amplo destaque no contexto brasileiro de mineração. Das 8880 companhias de mineração brasileiras, cerca de 40% estão localizadas no sudeste (IBRAM, 2015).

A Fig. 1 traz a localização dos depósitos minerais brasileiros, evidenciando a concentração no sudeste, principalmente no estado de Minas Gerais.

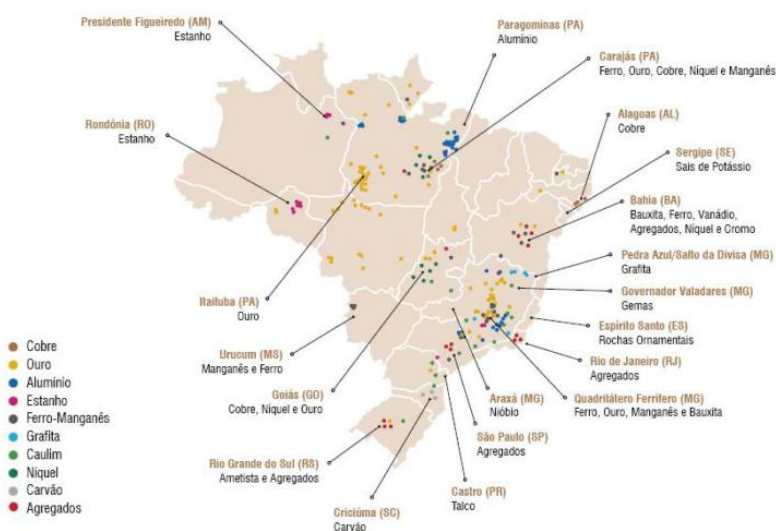


Figura 1: Localização dos principais depósitos minerais nos estados brasileiros

Fonte: (IBRAM, 2015)

Apesar da sua importância econômica, a mineração é uma atividade que produz fortes externalidades sobre meio ambiente, tais como a poluição do ar, da água e do solo por rejeitos de minério. Além dos transtornos relacionados à elevação do nível de ruídos nas regiões de extração. Todos esses impactos afetam não somente os seres humanos, mas também os demais seres vivos que habitam o ecossistema. Por conta disso, a pressão social sobre a indústria de mineração tem se tornado cada vez maior para que sejam implantadas medidas de atenuação dos impactos ambientais e prevenção de desastres (FARIAS; COELHO, 2002).

1.3.2. Descarte dos rejeitos de minério

Os processos de mineração geram como subprodutos um elevado volume de rejeitos de minério. Por não apresentarem valor econômico, esses materiais são descartados nas proximidades do complexo industrial, geralmente sob a forma de pilhas ou barragens. O descarte desses resíduos bem como a manutenção das estruturas de sua contenção devem observar todas as normas e boas práticas de segurança de modo a minimizar os impactos sobre o meio ambiente (PEREIRA, 2005).

De acordo com Maturano Rafael (2012):

“Uma barragem de rejeito é uma estrutura de terra construída para armazenar resíduos de mineração, os quais são definidos como a fração estéril produzida pelo beneficiamento de minérios, em um processo mecânico e/ou químico que divide o mineral bruto em concentrado e rejeito. O rejeito é um material que não possui maior valor econômico, mas para salvaguardas ambientais deve ser devidamente armazenado”.

As barragens são construídas a partir de um dique de partida formado por materiais argilosos ou rochas compactadas. Em seguida, são lançados os rejeitos que se deseja descartar, esses formam um amontoado denominado “praia de rejeitos”. Ao longo de sua vida útil, as barragens passam por processos de alteamentos, de forma a aumentar a capacidade de armazenamento de rejeitos de acordo com as demandas da mineradora. As técnicas de alteamento existentes são: método à montante, método à jusante e método da linha de centro (ESPÓSITO, 2000).

A Fig. 2 traz a exemplificação dos três métodos:

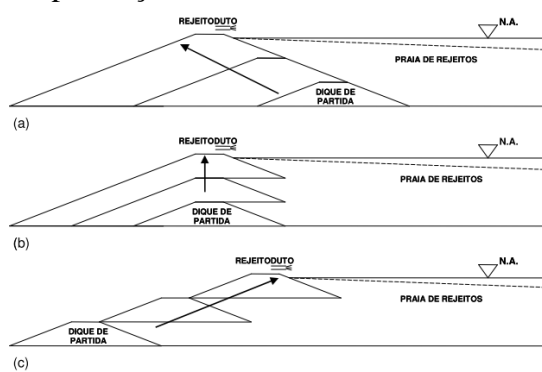


Figura 2: Métodos de construção de barragem: (a) jusante; (b) linha de centro; (c) montante
Fonte: (PEREIRA, 2005)

No método à montante, os alteamentos são feitos sempre a montante do dique de partida, sendo a base para os mesmos a “praia de rejeitos”, o que aumenta os riscos de ruptura. Apesar de não recomendado pela ABNT, ele é amplamente utilizado nas

barragens brasileiras, especialmente em Minas Gerais, por apresentar custos de construção inferiores aos demais. A sua utilização acarreta um alto nível de monitoramento durante todo o funcionamento da barragem para que não haja infiltração de água induzindo o processo de liquefação dos rejeitos. (PEREIRA, 2005).

A barragem do Fundão foi construída através desse procedimento e o não cumprimento de todas as exigências de segurança pela empresa responsável, Samarco S.A., ocasionou o maior desastre envolvendo barragens de minério do mundo (CARMO *et al.*, 2017). Depois dessa tragédia, o Governo de Minas Gerais proibiu que novas construções fossem feitas pelo método a montante no estado (REDSHAW *et al.*, 2017).

Em relação aos custos do método à montante, Espósito (2000) acrescenta que:

“Pode-se dizer que o volume de aterro, no método de montante, disponibilizado para a construção dos diques periféricos, é a metade do utilizado no método da linha de centro e um terço do gasto no método de jusante. Dessa forma, é obtido, em relação aos demais métodos, um baixo custo”.

Apesar das vantagens financeiras desse procedimento para as mineradoras, o método à montante por utilizar a própria “praia de rejeitos” como base para os novos alteamentos, apresenta um fator crítico em relação à segurança. Os rejeitos depositados por não estarem consolidados tendem a apresentar baixa resistência ao cisalhamento, ou seja, as chances de ruptura desse tipo de barragem são maiores. Outra desvantagem deste método é a dificuldade de implantação de um sistema de drenagem eficiente de modo a controlar o nível de água no interior da barragem, o que aumenta o risco de ocorrência do fenômeno de liquefação e consequentemente de ruptura da estrutura (ESPÓSITO, 2000).

No método a jusante, os alteamentos são feitos a jusante a partir do dique de partida, de forma independente dos rejeitos que são lançados a montante do dique, garantindo maior estabilidade à estrutura. Esse método apesar de mais seguro em relação fenômeno de liquefação, exige uma área maior para construção da barragem, sendo, por isso, mais caro do que os demais (PEREIRA, 2005).

O método linha de centro é uma solução intermediária entre os métodos a montante e a jusante, é mais seguro que o método a montante e requer uma área de barragem menor que o método jusante. Nele, os alteamentos são feitos de forma verticalizada em relação à crista, de forma a conservar o eixo de simetria da barragem constante (PEREIRA, 2005; MATURANO RAFAEL, 2012).

1.3.3. Histórico de desastres envolvendo barragens de minério

Os desastres envolvendo barragens de mineração costumam ter dimensões catastróficas. A Tabela 1 traz o resumo de alguns desastres envolvendo barragens de minério no mundo e a Tabela 2 traz os principais desastres em Minas Gerais.

Tabela 1: Revisão bibliográfica sintetizada dos principais desastres envolvendo barragens de minério no mundo

Data do incidente	Mina/Local	Tipo de rejeito	Vol. de rejeito expelido (m ³)	Causa	Impacto/observações	Fontes
1982	Sipalay, Negros Ocidental, Filipinas	Cobre	28.000.000	Falha da barragem, devido ao deslizamento de fundações em solos argilosos	Inundação generalizada de terras agrícolas até 1,5 m de altura	(WISE, 2017)
jul/85	Stava, Italia	Areia fina e material silto-argiloso	240.000	Liquefação de rejeitos.	Houve 268 mortos. A região de Stava foi destruída.	(DAVIES, 2002)
ago/91	Sullivan, Canadá	Chumbo e cobre	75.000	Liquefação de rejeitos arenosos (barragem construída pelo método à montante)	Um segundo dique conteve o fluxo de rejeitos limitando a extensão dos impactos	(DAVIES, 2002); (RIBEIRO, 2015)
1992	Padcal, Luzon, Filipinas	Cobre	32.000.000	Colapso da parede da barragem (falha da fundação)	-	(WISE, 2017);
fev/94	Merriespruit, África do Sul	Ouro	600.000	Possível liquefação. Testes laboratoriais não conseguiram precisar a falha.	A lama percorreu cerca de 2 km e cobriu 500.000 m ² . 17 pessoas perderam a vida.	(DAVIES, 2002)
1995	Omai, Guiana Francesa	Ouro	4.200.000	Falha de erosão interna, não envolvendo liquefação.	Contaminação dos rios Omai e Essequibo com cianeto.	(DAVIES, 2002)
abr/98	Aznalcóllar, Espanha	Zinco, cobre, chumbo e prata	4.600.000	Liquefação de rejeitos causada pelas técnicas de construção inapropriadas a região.	Foram gastos em €152 milhões em perdas socioeconômicas. Aproximadamente €147 milhões para remediar os impactos ambientais negativos	(DAVIES, 2002); (RIBEIRO, 2015)
jan/00	Baia Mare, Roménia	Ouro	100.000	-	Contaminação do rio Tisza com cianetos, prejudicando o abastecimento de água de mais de 2 milhões de pessoas.	(RIBEIRO, 2015)

mar/00	Baia Borsa, Romenia	Chumbo, cobre e zinco	22000 ton	Rompimento de um reservatório	O acidente levou à poluição do Rio Vaser com minerais e possivelmente metais pesados. Esse rio é um tributário do Rio Tizca, logo os impactos se estenderam também a Hungria e a Ucrânia.	(RIBEIRO, 2015); (UNEP/OCHA, 2000)
set/00	Aitik, Suécia	Cobre	2.500.000	-	-	(RIBEIRO, 2015)
out/10	Kolontár, Hungria	Bauxita	900.000	Cisalhamento	9 mortos e 123 desabrigadas. Soterramento da vila de Kolontár	(RIBEIRO, 2015)
ago/14	Mount Polley, Canadá	Ouro	25.000.000	Ruptura de fundação por cisalhamento	Os Rejeitos fluíram para o lago Polley, adjacente à estrutura e fluíram até o rio Hazeltine até o lago Quesne	(RIBEIRO, 2015)

Tabela 2: Revisão bibliográfica sintetizada dos principais desastres envolvendo barragens de minério em Minas Gerais

Data do incidente	Mina/Local	Tipo de rejeito	Vol. de rejeito expelido (m ³)	Causa	Impacto/observações	Fonte
1986	Fernandinho, Itabirito	Minério	100.000	-	-	(RIBEIRO, 2015)
jun/01	Rio Verde, em Nova Lima	Ferro	600.000	-	5 mortos. Soterramento de parte da localidade de São Sebastião das Águas Claras e devastação de 79 hectares de Mata Atlântica. Prejuízos ao turismo.	(CETEM, 2016a)
jan/07	São Francisco, Miraf	Bauxita	2.000.000	A barragem encontrava-se no seu limite e, com as fortes chuvas que caíram sobre a região houve vazamento	Mais de 6 mil moradores desalojados. Em Muriaé, a lama atingiu 1.200 casas. Comprometimento do abastecimento de água, intensificação do assoreamento de rios e inundações.	(CETEM, 2012)
set/14	Herculano, Itabirito	Ferro	-	Ruptura por cisalhamento	Óbito de 3 operários. Além da contaminação de rios afluentes ao rio Das Velhas e do comprometimento do abastecimento de água e de energia elétrica de 300 residências.	(CETEM, 2016b); (RIBEIRO, 2015)

nov/15	Germano (Rompimento da barragem do Fundão), Minas Gerais	Ferro	55.000.000	Liquefação dos rejeitos arenosos	19 mortes. Destruição total do distrito Bento Rodrigues e destruição parcial de várias outras regiões. Ao todo foram atingidas 35 cidades em Minas Gerais e 3 no Espírito Santo.	(Marta-Almeida <i>et al.</i> , 2016); (SEDRU, 2016)
fev/18	Barcarena, Pará, Brasil	Bauxita	-	Transbordo da barragem de rejeitos após forte chuva na região	-	(WISE, 2017);

1.3.4. Barragens de mineração em estado de alerta em Minas Gerais

A Deliberação Normativa COPAM nº 87, de 17 de junho de 2005, estabelece a necessidade de auditorias técnicas independentes de modo a garantir a segurança das barragens (Minas Gerais, 2005).

Os responsáveis por esses empreendimentos no estado de Minas Gerais devem preencher o cadastro das barragens no Banco de Declarações Ambientais (BDA) e enviar as informações atualizadas à Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM). A FEAM disponibiliza anualmente um relatório com a situação das barragens no estado de Minas Gerais (FEAM, 2017).

A Fig. 3 consolida os pareceres contidos nos relatórios dos anos de 2014, 2015 e 2016 a cerca do potencial de ruptura das barragens mineiras. No ano de 2014, 401 barragens tiveram estabilidade assegurada pelo auditor, o equivale a 89% do total registrado no BDA. Neste mesmo ano, as barragens em situação de alerta, isto é, aquelas cuja estabilidade não foi garantida e aquelas em que o auditor não pode concluir seu parecer devido à falta de dados e/ou documentos técnicos somaram 39 barragens (9% do total).

Cabe destacar, que a barragem do Fundão que rompeu no dia 5 de novembro de 2015, havia tido a estabilidade garantida pelo auditor em 2014, conforme publicado na Lista de Barragens 2014, divulgada pela FEAM (<http://www.feam.br/monitoramento/gestao-de-barragens>). Além disso, em todos os anos, algumas barragens registradas no BDA não apresentam dados relativos aos pareceres de estabilidade. Uma das razões para isso são as barragens em condição especial, ou seja, que realizaram seu cadastro, porém não inseriram Declaração de Condição de Estabilidade (DCE) (FEAM, 2014). Desse modo, não é possível identificar se alguma dessas barragens encontra-se em situação de alerta.

No ano de 2015, oficialmente 33 barragens encontravam em estado de alerta (7% do total). Em 2016, foram 20 barragens (5% do total).

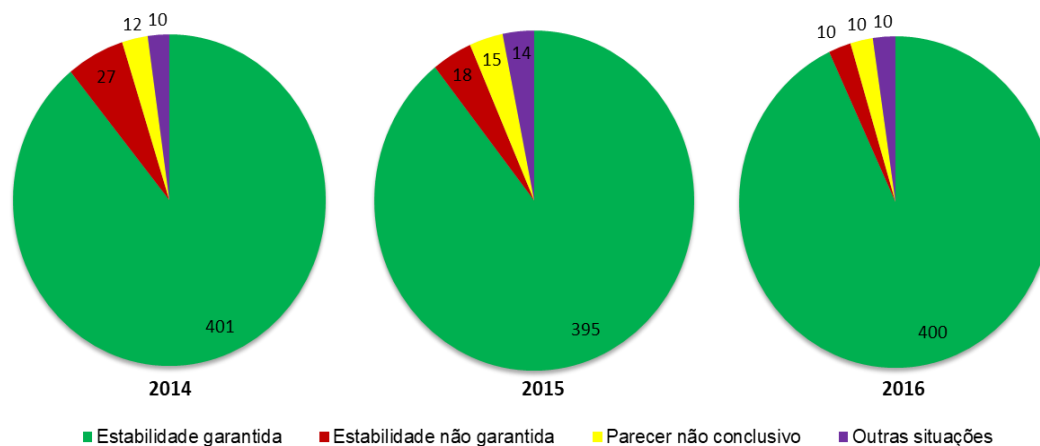


Figura 3: Condições de estabilidade das barragens de rejeitos de minério do estado de Minas Gerais nos anos de 2014, 2015 e 2016

Fonte: Adaptado de (FEAM, 2017)

1.4. Bacia Hidrográfica do Rio Doce e o desastre do Fundão

1.4.1. Características gerais da bacia

A Bacia Hidrográfica do Rio Doce (BHRD) localiza-se na região sudeste, com a maior parte da área de drenagem no estado de Minas Gerais, 86%, e o restante pertencente ao estado do Espírito Santo. A bacia abrange 230 municípios desde as serras da Mantiqueira e do Espinhaço até o Povoado de Regência, no Espírito Santo (CBH-DOCE, 2016).

Coelho (2016) destaca que:

“O Rio Doce recebe esse nome a partir da confluência dos rios Piranga e do Carmo, entre as cidades de Ponte Nova, Rio Doce e Santa Cruz do Escalvado, em Minas Gerais. O curso d’água principal da bacia percorre 888 km desde a nascente do rio Xopotó até a sua foz no Oceano Atlântico localizada no município de Linhares, Estado do Espírito Santo”.

A Fig. 4 traz o mapa com a localização geográfica da bacia no território brasileiro.

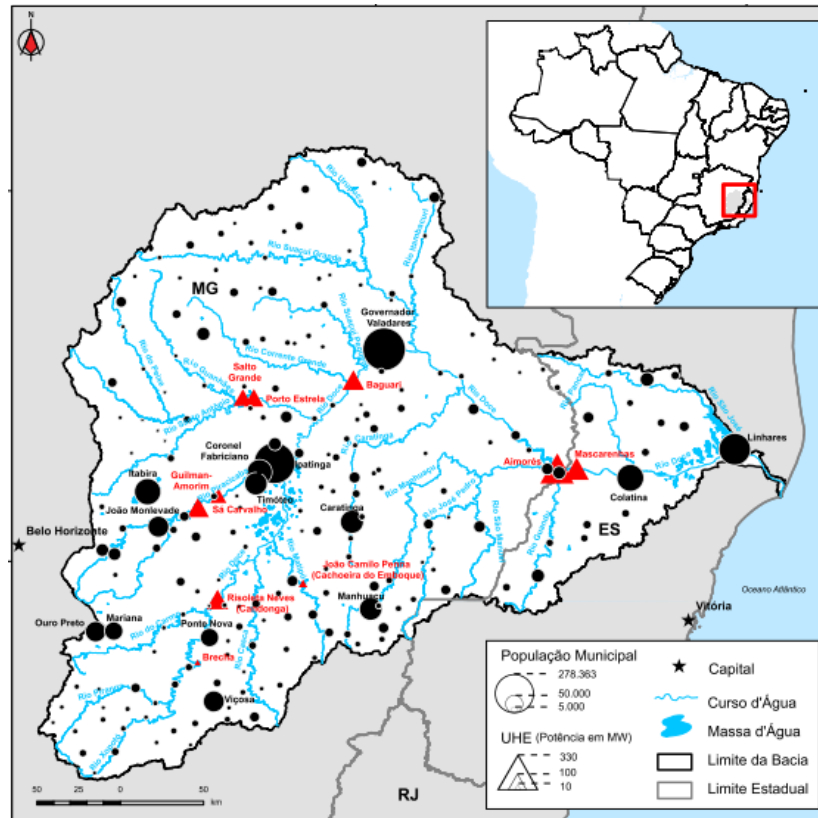


Figura 4: Localização da Bacia Hidrográfica do Rio Doce no território brasileiro.
Fonte: (COELHO, 2016)

A BHRD pertence, em grande parte, ao bioma de Mata Atlântica, 98% de sua extensão, sendo o restante da bacia correspondente ao bioma de cerrado. (PIRES *et al.*, 2017). O bioma da mata atlântica é um dos mais ricos em biodiversidade do mundo, sendo originalmente composto de formações florestais e ecossistemas associados como as restingas, manguezais e campos de altitude (LIMA *et al.*, 2015). Contudo, a região apresenta elevados índices de desflorestamento, o que aumenta suscetibilidade do solo a erosão (PIRES *et al.*, 2017).

Em relação às características físicas, o solo da BHRD apresenta declividades elevadas, o que restringe as atividades econômicas e a ocupação do solo, condicionando a concentração socioeconômica às regiões próximas aos cursos de água, em áreas de maior risco de inundações (COELHO, 2016).

Por conta dessas características naturais do solo e do uso intensivo do mesmo pelas atividades econômicas, ECOPLAN-LUME (2010) acrescenta que cerca de 60% da bacia do Rio Doce apresenta alto potencial de erosão e alerta para a necessidade de estudos mais aprofundados para determinar a quantidade de matéria que se instalou nas áreas de drenagem da bacia.

No que concerne ao regime pluviométrico, os meses de chuva e seca são bem definidos. Na maior parte dos municípios que integram a BHRD, o período chuvoso tem início em outubro e término em março. Os meses de dezembro e janeiro costumam apresentar maiores índices de precipitação. Já o período seco ocorre entre abril e setembro. Essas características pluviométricas afetam diretamente a vazão do Rio Doce. O período de menor vazão do rio ocorre a partir do mês de abril com o término da estação das chuvas, estando as menores vazões concentradas no mês de agosto. A partir do mês de novembro ocorre o aumento da vazão do Rio Doce (CUPOLILLO, 2008).

1.4.2. O rompimento da barragem de rejeitos do Fundão

A barragem do Fundão, localizada no município de Mariana, na porção mineira da BHRD, em conjunto com as barragens de Germano e de Santarém, era responsável pela retenção dos rejeitos de produção de concentrado de minério de ferro (Pellet Feed) das usinas do Complexo Minerador Germano Alegria sob responsabilidade da Mineradora Samarco S.A. (IEF, 2014).

A Samarco S.A. é uma joint venture societária igualmente dividida entre a brasileira Vale e a anglo-australiana BHP Billiton, cabendo a Vale a responsabilidade operacional do empreendimento. As atividades operacionais da Samarco envolvem extração de minérios, beneficiamento primário, logística dutoviária, pelotização e transporte transoceânico de pelotas e finos de minério (WANDERLEY; MILANEZ; PINTO, 2016).

No dia 5 de novembro de 2015 ocorreu o rompimento da barragem do Fundão, liberando uma devastadora onda de lama (Fig. 5) que ocasionou a morte de 19 pessoas, além de impactar a rotina de inúmeras outras (SAMARCO, 2017). Conforme disposto na Fig. 5, a onda de lama forçou passagem pela barragem de Santarém e avançou 55 km pelo Rio Gualaxo do Norte até desaguar no Rio do Carmo, em seguida foram percorridos 22 km até o Rio Doce, a partir deste ponto os rejeitos foram carreados até a foz do Oceano Atlântico (IBAMA, 2015).

As barragens ao longo do trajeto da lama, em especial a barragem Risoleta Neves serviram para retenção das partículas maiores de rejeitos e para redução da velocidade da onda de lama. Segundo Comitê Interfederativo (2016) apenas a usina de Risoleta Neves (anteriormente denominada Candongas) reteve 10 milhões de m³ de rejeitos de minério de ferro e outros sólidos.

Na barragem do Fundão eram armazenados dois tipos: os arenosos, constituídos por areias e partículas com granulometria de Silte, e as lama que são mais finas e possuem aspecto semelhante à argila. Enquanto os rejeitos arenosos possuem capacidade de drenar água, as lamas possuem baixa permeabilidade. A saturação do rejeito de areia, isto é a infiltração excessiva de água, foi decisiva para o processo de liquefação que culminou na tragédia. A baixa permeabilidade à água do rejeito de lama, por sua vez, comprometeu a fertilidade dos solos das regiões impactadas. No momento do vazamento os dois tipos de rejeitos foram expelidos simultaneamente formando uma grande onda de lama (MORGENSTERN *et al.*, 2016).

Em relação às características deste rejeito de minério, Pires *et al.* (2003) ao analisar o potencial poluidor do rejeito produzido pela Samarco constatou que o mesmo pertence a classe III (inerte), no entanto apresenta grande capacidade de retenção de metais e cromo.

Análises das amostras de lama no mês do derramamento identificaram que a mesma era composta majoritariamente dos elementos SiO_2 , Fe, Mn, Cu, Ca e Cr (SEGURA *et al.*, 2016).

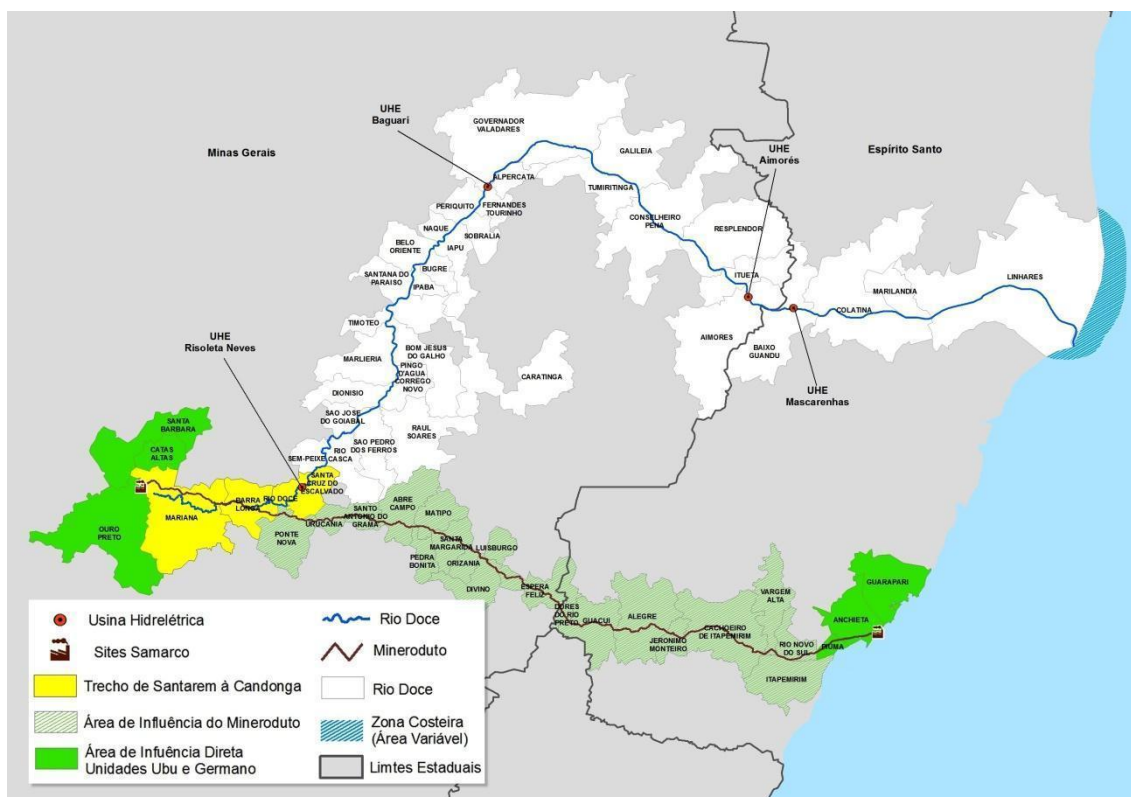


Figura 5: Percurso percorrido pela lama na BHRD após a ruptura da barragem da Samarco
Fonte: (SAMARCO, 2017)

Marta-Almeida *et al.* (2016) acrescenta que o colapso da barragem do Fundão liberou uma quantidade estimada de $55 \times 10^6 \text{ m}^3$ de rejeitos relacionada à extração de minério de ferro, resultando na destruição total do distrito Bento Rodrigues e destruição parcial de várias outras regiões.

Ao todo foram atingidas 35 cidades em Minas Gerais e 3 no Espírito Santo, devido a suas proporções este acidente caracteriza-se como o maior envolvendo barragens de rejeito no mundo (SEDRU, 2016). A perda anual em serviços ecossistêmicos por conta desse desastre supera em cerca de seis vezes o valor máximo de US\$ 90 milhões permitido na legislação brasileira para multas ambientais (Garcia *et al.*, 2017).

1.4.2.1. Contextualização quanto às causas do desastre

As primeiras falhas na barragem do Fundão surgiram bem antes do seu rompimento em 2015. O layout original da barragem do Fundão (Fig. 6) contava com dois diques, de modo a assegurar que os rejeitos arenosos e a lama armazenados no local não se misturassem e se mantivessem na proporção de 70% e 30%, respectivamente. Durante os processos de alteamento da barragem, as areias depositadas entre os dois diques deveriam permanecer em uma elevação mais alta, de modo a conter a lama. Além disso, o sistema de drenagem abaixo dos diques deveria funcionar adequadamente de modo a impedir a saturação das areias (MORGENSTERN *et al.*, 2016).

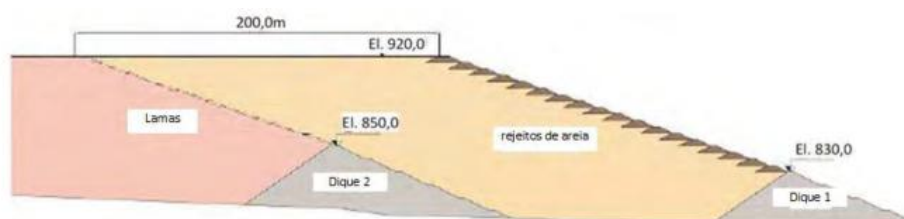


Figura 6: Layout original da construção da barragem do Fundão pelo método a montante
Fonte: (MORGENSTERN *et al.*, 2016)

Contudo erros na construção do dreno de fundo abaixo do Dique 1 impediram a implantação do projeto inicial e a alteração do mesmo admitiu uma saturação maior dos rejeitos, alterando a proporção entre areias (70%) e lama (30%) e elevando o risco de liquefação. Nos anos de 2011 e 2012, o descumprimento do critério de largura para barragens a montante de no mínimo 200 m para a praia de rejeitos, permitiu a entrada excessiva de água. Em 2013 a infiltração de água se acentuou ainda mais e em 2014 a

manta de drenagem destinada a controlar essa saturação atingiu sua capacidade máxima (MORGENSTERN *et al.*, 2016).

Em relação à ruptura da barragem do Fundão em 5 de novembro de 2015, o inquérito da Polícia Civil de Minas Gerais concluiu que o rompimento da barragem está diretamente associado ao processo de liquefação dos rejeitos arenosos, isto é, a redução da resistência ao cisalhamento (SEGOV, 2016). Sendo destacados sete fatores determinantes:

- i. Elevada saturação dos rejeitos arenosos depositados na Barragem de Fundão, não apenas daqueles depositados sob o recuo do eixo da barragem cujo nível de água em seu interior atingiu a elevação aproximada de 878m (de acordo com leituras dos piezômetros indicados pelo consultor Pimenta de Ávila), mas também dos rejeitos arenosos depositados no restante da barragem, em virtude da existência de fluxo subterrâneo de água e de contribuições de nascentes no entorno.
- ii. Falhas no monitoramento contínuo do nível de água e das poropressões junto aos rejeitos arenosos depositados no interior da barragem e junto aos rejeitos constituintes dos diques de alteamento realizados.
- iii. Diversos equipamentos de monitoramento encontravam-se com defeito, não sendo realizadas, inclusive pelo pessoal da VOGBR, as respectivas leituras, quando da emissão do laudo de segurança da barragem.
- iv. Monitoramento deficiente em virtude do número reduzido de equipamentos instalados na barragem. Havia regiões descobertas dos alteamentos realizados, em termos do número de piezômetros e medidores de nível de água instalados.
- v. Elevada taxa de alteamento anual da barragem, em função do grande volume de lama que era depositado em seu interior (cerca de 20m de altura por ano, em média). É sabido que o alteamento de qualquer barragem de rejeitos deve acompanhar a elevação do nível do lago formado. Nos dois últimos anos, os alteamentos foram realizados a uma taxa anual muito superior à recomendada na literatura técnica, que é de no máximo 10m de altura.
- vi. Assoreamento do dique 02, o que permitiu infiltração de água de forma generalizada para a área abrangida pelos rejeitos arenosos, no lado direito da bacia de deposição de rejeitos.
- vii. Deficiência junto ao sistema de drenagem interno da barragem cujos volumes de água drenados, de acordo com os resultados de monitoramento apresentados pela Samarco para o meses de setembro e outubro de 2015 eram semelhantes e até mesmo inferiores a resultados obtidos em 2014.

Em complemento, Wanderley, Milanez e Pinto (2016) destacam a política agressiva de elevação da produtividade adotada pela Samarco S.A. nos últimos anos. Os autores ressaltam três fatores decorrentes dessa política que foram decisivos para a ruptura da barragem:

- i. A ampliação da escala operacional da empresa nos últimos anos condicionou e interagiu com os determinantes fisiográficos da reserva, intensificando sua depleção mineral quantitativa e qualitativa e, portanto, impulsionando a expansão significativa da geração de estéril e rejeitos de minério;
- ii. Essa expansão demandou, conseqüentemente, ampliações correspondentes da capacidade de disposição de estéril e, principalmente, rejeitos, determinando o aumento significativo do uso de recursos naturais (em especial da água, nos processos de beneficiamento primário e disposição) e da escala dos riscos associados à opção preferencial por barragens;
- iii. Finalmente, esses elementos mantêm uma orientação exclusivamente exportadora, definida em função de estratégias privadas e públicas de acesso a recursos minerais, assim como do próprio Estado brasileiro na entrada de divisas e equilíbrio da balança comercial.

Além disso, o rompimento da barragem do Fundão evidencia graves falhas no processo de licenciamento e monitoramento destes empreendimentos. No “Inventário de barragens Minas Gerais”, publicado pela FEAM, a barragem do Fundão foi considerada estável, não havendo nenhum alerta sobre os riscos de eventuais acidentes. Ademais, o EIA-Rima da barragem classificava o risco de rompimento como improvável, desconsiderando o histórico de rompimentos de barragens de rejeitos na região. Também não havia projeção de cenários para o caso de sinistros nesse documento. (WANDERLEY; MILANEZ; PINTO, 2016).

Contudo, tais falhas dos órgãos reguladores não minimizam a responsabilidade da empresa responsável pelo empreendimento, conforme disposto no parágrafo único do art. 7 da Deliberação Normativa COPAM nº 62, de 17 de dezembro de 2002:

“As atividades dos órgãos com atribuições de fiscalização não eximem os proprietários de empreendimentos da total responsabilidade pela segurança das barragens e reservatórios existentes nos seus empreendimentos, bem como das conseqüências pelo seu mau funcionamento”.

1.4.2.2. Contextualização quanto aos impactos do desastre

A ruptura de uma barragem de rejeitos de minério gera impactos que se estendem por diferentes esferas. Sob o ponto de vista ambiental, ocorrem alterações nos ecossistemas das regiões atingidas direta e indiretamente pelos rejeitos liberados que podem até mesmo culminar na extinção de algumas espécies. Existe também a possibilidade de alteração da capacidade de rebrota da vegetação atingida devido à remoção da camada superficial do solo e ao soterramento de algumas regiões com lama. Além da contaminação das águas com os rejeitos e o assoreamento dos rios. Sob a perspectiva social, existe a devastação das residências das comunidades vizinhas ao infortúnio, além do comprometimento do abastecimento de água e das fontes de renda (PEREIRA, 2005).

A Tabela 3 traz o levantamento dos principais desdobramentos ambientais do rompimento da barragem de rejeitos do Fundão, sob a perspectiva da Força Tarefa instaurada pelo governo de Minas Gerais e composta por representantes de órgãos e entidades do Estado e dos municípios afetados e coordenada pela Secretaria de Estado de Desenvolvimento Regional, Política Urbana e Gestão Metropolitana (SEDRU, 2016).

Tabela 3: Impactos ambientais do rompimento da barragem do Fundão nas subcategorias ambientais: água, solo e biodiversidade.

Subcategorias	Abrangência	Danos
Água	Rios Gualaxo do Norte, do Carmo e Doce e alguns afluentes menores	*Qualidade de água; *Forte assoreamento dos trechos de rio até barragem Risoleta Neves; *Contínuo carreamento e deposição de sedimentos; *Problemas de abastecimento de água.
Solo	Encostas dos vales, fundos de várzea, nas planícies aluviais e nas áreas de colúvio	*Degradação e erosão do solo; *Remodelamento do relevo; *Modificações na linha do talvegue, o que alterou o curso do rio; *Ravinamentos; *Redução de fertilidade; *Redução da capacidade de infiltração de água; *Aumento da concentração de Fe, o que acarreta o endurecimento e encrostamento superficial do solo; *Redução de pH em alguns trechos; *Presença de sódio trocável com saturação superior a 10%, o que é prejudicial às plantas.
Biodiversidade	Ainda incerta. Os danos sobre a biodiversidade são muito	*Devastação de 374,81 ha de cobertura florestal ciliar;

	complexos, pois nem todos os impactos podem ser dimensionados a priori, sendo necessários estudos mais aprofundados e monitoramento da região.	*Desde as barragens de Santarém e Fundão, até parte do Rio Gualaxo do Norte em direção ao Rio do Carmo, estima-se que o impacto em 560,35 ha, dos quais 384,71 ha seriam de Mata Atlântica; *No prolongamento do Rio Gualaxo do Norte em direção à foz do Rio Doce, estima-se 1.026,65 ha de cobertura vegetal atingida, com 126,37 ha de Mata Atlântica.
--	--	--

Fonte: Adaptado de (SEDRU, 2016)

Além dos impactos já levantados, Fernandes *et al.* (2016) chama atenção para os impactos imensuráveis do desastre, como extinção de espécies aquáticas endêmicas da região que ainda não haviam sido descritas. Desse modo, a perda de diversidade na região pode ser ainda bem maior do que a levantada.

Outro aspecto que merece destaque na escala macrorregional são os danos ao turismo, muitos municípios que não foram diretamente atingidos pela lama sofreram com a redução do fluxo de pessoas. Segundo SEDRU (2016) houve uma redução de até 70% no fluxo de passageiros nas balsas que atravessam o Rio Doce nos meses seguintes ao desastre. Municípios como Sem Peixe, Governador Valadares, Tumiritinga e Resplendor tiveram o setor hoteleiro e o comércio local fortemente impactados pela redução de turistas.

1.5. Objetivos

- ✓ Investigar se as amostras de água coletadas no Rio Doce após o rompimento da Barragem do Fundão evidenciam divergências em relação a um rio brasileiro sem histórico de mineração (Rio Paraguaçu);
- ✓ Construir um perfil físico-químico anterior ao derramamento, por meio dos dados públicos disponíveis e comparar com as características do meio ambiente pós-derramamento. Verificar o nível de conformidade dos resultados com a Resolução Conama 357;
- ✓ Investigar se as mudanças físico-químicas na qualidade da água induziram mudanças no potencial funcional microbiano do Rio Doce;
- ✓ Fornecer uma contribuição à sociedade sobre os desdobramentos ao meio ambiente do rompimento da Barragem do Fundão.

1.6. Relevância da pesquisa

Após o rompimento da barragem do Fundão, muitas pesquisas independentes foram feitas com o intuito de dimensionar as causas e os desdobramentos da tragédia. Dentre estas, algumas renderam publicações importantes (Tabela 4).

Tabela 4: Principais trabalhos publicados em periódicos acerca das causas e desdobramentos do desastre do Fundão

Título	Periódico	Fonte
Distribution and environmental impact evaluation of metals in sediments from the Doce River Basin, Brazil	Environmental Earth Sciences	(SANTOLIN <i>et al.</i> , 2015)
Brazil's mining code under attack: giant mining companies impose unprecedented risk to biodiversity	Biodiversity and Conservation	(MEIRA <i>et al.</i> , 2016)
Potential risks of the residue from Samarco's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil)	Environmental Pollution	(SEGURA <i>et al.</i> , 2016)
Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil	Natureza e Conservação	(FERNANDES <i>et al.</i> , 2016)
Neglect of ecosystems services by mining, and the worst environmental disaster in Brazil	Natureza e Conservação	(NEVES <i>et al.</i> , 2016)
Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident	Marine Pollution Bulletin	(MARTA-ALMEIDA <i>et al.</i> , 2016)
Forest restoration can increase the Rio Doce watershed resilience	Perspectives in Ecology and Conservation	(PIRES <i>et al.</i> , 2017)
The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil	Marine Pollution Bulletin	(GOMES <i>et al.</i> , 2017)
The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide	Scientific Reports	(HATJE <i>et al.</i> , 2017)
Post-catastrophe Analysis of the Fundão Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils	Water, Air, and Soil Pollution	(GUERRA <i>et al.</i> , 2017)
Brazil's worst mining disaster: Corporations must be compelled to pay the actual environmental costs	Ecological Applications	(GARCIA <i>et al.</i> , 2017)
Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context	Perspectives in Ecology and Conservation	(CARMO <i>et al.</i> , 2017)
Biodiversity monitoring in the environmental impact assessment of mining projects: a (persistent) waste of time and money?	Perspectives in Ecology and Conservation	(DIAS; FONSECA; PAGLIA, 2017)
Desastre da Samarco no Brasil: desafios para a conservação da biodiversidade	Journal of Social, Technological and Environmental Science	(ESPINDOLA <i>et al.</i> , 2017)
Changes in land use and land cover as a result of the failure of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil	Land Use Policy	(AIRES <i>et al.</i> , 2018)

Apesar dos avanços na compreensão do tema, poucos trabalhos exploraram os impactos do desastre sobre a microbiota da região. Dos trabalhos analisados apenas Segura *et al.* (2016) enquadra-se nesse perfil. Esse trabalho fez uma caracterização da diversidade microbiana utilizando técnicas dependentes de cultivo e uma análise das

concentrações de metais em amostras de água, solo e lama coletados 25 dias após o desastre do Fundão em Bento Rodrigues.

Adicionalmente, outros trabalhos enfatizaram aspectos físico-químicos de amostras de água, solo ou sedimentos, tais como Santolin *et al.* (2015), Hatje *et al.* (2017), Gomes *et al.* (2017) e Guerra *et al.* (2017). Os demais trabalhos exploraram aspectos não relacionados aos objetivos dessa pesquisa: Meira *et al.* (2016), Espindola *et al.* (2017), Pires *et al.* (2017) e Aires *et al.* (2018) exploraram aspectos relativos à vegetação afetada, Marta-Almeida *et al.* (2016) analisou a dispersão da onda de rejeitos no Oceano Atlântico, Fernandes *et al.* (2016), Neves *et al.* (2016), Garcia *et al.* (2017), Carmo *et al.* (2017) e Dias, Fonseca e Paglia (2017) fizeram revisões de pareceres oficiais do governo, relatórios independentes de universidades e artigos publicados sobre o Rio Doce.

Em complemento a estes trabalhos já publicados, essa pesquisa propõe uma análise mais profunda do pós-desastre ao longo do tempo por meio de indicadores microbiológicos e físico-químicos. A cobertura temporal proposta é mais ampla do que adotada em trabalhos similares, ao todo foram realizadas 3 coletas em campo após o derramamento (nov/2015, abr/2016 e set/2016), além do uso de uma base de dados pública contendo dados físico-químicos do ano de 2000 até 2016.

Adicionalmente, essa pesquisa traz uma análise da microbiota do Rio Doce utilizando a técnica de metagenômica que permite a análise das amostras obtidas em campo sem a necessidade de cultivo. Dado que apenas 1% dos microrganismos podem ser cultivados com êxito em laboratório (SINGH *et al.*, 2009), essa técnica possibilita uma análise mais fidedigna da composição microbiana.

Por fim, o trabalho publicado mais próximo à proposta dessa pesquisa, Segura *et al.* (2016), apesar da sua valiosa contribuição para caracterização preliminar do potencial de risco dos rejeitos liberados pelo rompimento da barragem do Fundão, limitou-se a região de Bento Rodrigues no mês da tragédia, enquanto foram consideradas nesse estudo as regiões de Bento Rodrigues, Gualaxo, Rio do Carmo, Ipatinga, Governador Valadares, Tumiritinga, Resplendor, Aimorés, Baixo Guandu, Mascarenhas, Colatina e Linhares em três diferentes momentos (no mês do desastre, 4 e 9 meses depois).

CAPÍTULO 2 – REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Legislação ambiental

Adotaremos como referencial os parâmetros de biomonitoramento e físico-químicos das Resoluções CONAMA. Desse modo, cabe aqui uma breve contextualização sobre o órgão e suas principais determinações relacionadas a corpos hídricos.

De acordo com o Art. 1º do Regimento Interno do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2011):

“O Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA, órgão colegiado de caráter normativo, deliberativo e consultivo, em suas finalidades e competências instituídas pela Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, regulamentada pelo Decreto nº 99.274, de 6 de junho de 1990, e integra a estrutura do Sistema Nacional do Meio Ambiente-SISNAMA”.

Em relação a recursos hídricos, a Resolução CONAMA 357 tem por objetivo atender a determinação do art. 9º da Lei 9.433 que trata do enquadramento dos corpos de água em classes de acordo com o uso preponderante (BRASIL, 1997). Além disso, essa resolução estabelece níveis máximos de poluentes para cada uma das classes, de modo a coibir o lançamento excessivo de poluentes e resguardar a saúde humana e a biodiversidade do local (BRASIL, 2005).

Contudo, para os rios em que não houver proposta de enquadramento aprovada, em complemento a CONAMA 357, o artigo 37 da Deliberação Normativa Conjunta Copam/CERH- MG nº 01/2008 estabelece que sejam adotados os limites estabelecidos no enquadramento Classe 2 (MINAS GERAIS, 2008). Essa situação aplica-se ao Rio Doce (IGAM, 2015)

A Tabela 5 traz o enquadramento em classes da Resolução CONAMA 357 para água doce (com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰) e a destinação preponderante para cada classe. Segundo esta resolução, as águas de melhor qualidade podem ser usadas para fins menos exigentes, desde que não haja prejuízo para o corpo hídrico.

Tabela 5: Enquadramento de água doce de acordo com o uso preponderante previsto na Resolução CONAMA 357

Classes	Destinação
Classe Especial	Consumo humano (após desinfecção), preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas e dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.
Classe 1	Consumo humano (após tratamento simplificado), proteção das comunidades aquáticas, recreação de contato direto com a água, irrigação de alimentos que serão consumidos crus
Classe 2	Consumo humano (após tratamento convencional), proteção das comunidades aquáticas, recreação de contato direto com a água, irrigação de alimentos que serão consumidos crus, aquicultura e pesca
Classe 3	Consumo humano (após tratamento convencional ou avançado), irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras, pesca amadora, recreação de contato secundário, dessedentação de animais.
Classe 4	Navegação, harmonia paisagística.

Fonte: (BRASIL, 2005)

2.2. Contaminação do meio aquático

O ambiente aquático ocupa a maior parte da superfície terrestre e é bastante rico em termos de diversidade de seres vivos. Engloba diferentes ecossistemas com relações biológicas complexas, tais como rios, lagos, estuários, mares e oceanos. Em condições normais, estes ambientes encontram-se em equilíbrio tanto em termos físico-químicos como biológicos, possibilitando a convivência harmoniosa entre os seres que neles habitam. Porém, os rejeitos das atividades antrópicas, quando lançados de forma inadequada nestes locais, produzem perturbações que, por vezes, rompem resiliência da natureza de forma irreversível (LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2014).

Para Costa *et al.* (2008):

“A vulnerabilidade do ambiente aquático às substâncias químicas depende: das propriedades físicas e químicas dos contaminantes e dos produtos resultantes de sua transformação; da concentração dos contaminantes no ecossistema; da duração e do tipo de descarga dos contaminantes (descarga intermitente ou contínua); das propriedades do ecossistema que lhe permitem resistir às alterações resultantes da presença dos contaminantes, como a capacidade tamponante das águas e a concentração de matéria orgânica dissolvida nelas e, da localização do ecossistema em relação ao sítio de lançamento dos contaminantes”.

Ao entrarem em contato com o ambiente aquático os poluentes químicos podem ter sua estrutura comprometida por processos de degradação que podem ser bióticos (feitos por microrganismos) ou abióticos (hidrólise e fotólise). Quando estes processos ocorrem por intermédio da luz nas águas superficiais (podendo também ocorrer na atmosfera) recebe o nome de fotólise. As reações de hidrólise geralmente se dão pela substituição de um componente da molécula do contaminante por um átomo de

oxigênio, o que resulta em compostos mais solúveis e com menor potencial de absorção pelos organismos aquáticos. Além dos processos que comprometem a estrutura química dos contaminantes, existem processos que influenciam na distribuição temporal e espacial dos mesmos em meio aquoso, são estes os processos de transporte e transferência de fase. Dentre eles podem-se destacar os processos de volatilização (mudança do estado líquido/sólido para o gasoso), deposição, precipitação, dissolução, complexação (reação entre íons formando um novo composto), sorção (adsorção e dessorção), dissolução e precipitação, sedimentação e ressuspensão (COSTA *et al.*, 2008).

A Fig. 7 esquematiza os processos de degradação, transporte e transferência de fase dos contaminantes em meio aquoso.

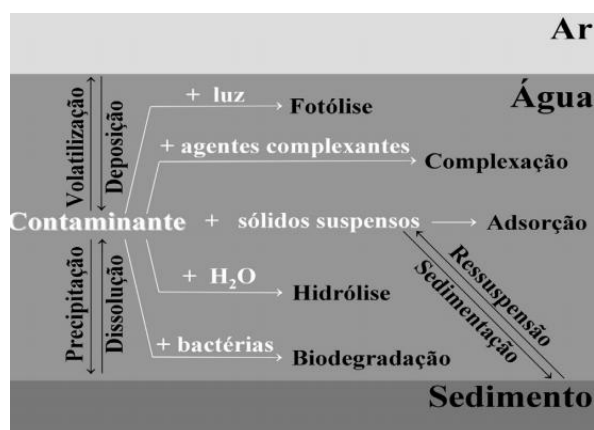


Figura 7: Processos de transporte e transformação de contaminantes no ambiente aquático
Fonte: (COSTA *et al.*, 2008)

2.2.1. Indicadores físico-químicos como métricas de qualidade das águas

Os metais estão presentes na natureza em rochas, solo, água e ar, porém geralmente são encontrados em baixa concentração e de forma dispersa. Eles são substâncias historicamente usadas em massa pelo ser humano para produção de utensílios e maquinários. Esse uso intensivo dos metais implicou no aumento da contaminação do meio ambiente com quantidades excessivas de rejeitos (COPE; LEIDY; HODGSON, 2004).

Alguns metais desempenham funções importantes no metabolismo dos seres vivos em pequenas concentrações. Essa categoria de compostos químicos recebe a designação de metais essenciais e inclui substâncias como ferro e zinco, por exemplo. Contudo, em concentrações elevadas até mesmo os metais essenciais podem ser tóxicos (Fig. 8). Os metais sem função metabólica conhecida, substâncias não essenciais,

geralmente são tóxicos, tais como chumbo e cromo (LAVRADAS, 2012; SILVA, 2008).

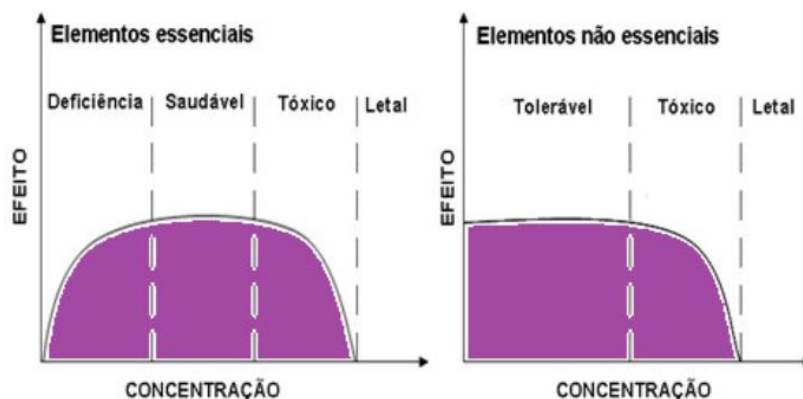


Figura 8: Representação gráfica da relação entre a concentração do elemento e seu efeito no organismo
Fonte: (LAVRADAS, 2012)

Os metais geralmente se encontram em baixas concentrações em ambiente aquoso, sendo esse tipo de contaminação uma grande ameaça ambiental por conta da toxicidade desses compostos. Além disso, esses contaminantes podem apresentar considerável persistência no meio e resistência aos processos de biodegradação, sendo, muitas vezes, transmitidos via cadeia trófica para múltiplos organismos, impactando uma vasta gama de seres vivos (RAHMAN *et al.*, 2014).

Os estudos de Gümğüm *et al.* (1994), por exemplo, demonstraram a contaminação de peixes por metais pesados no Rio Tigre, na Turquia. Nessa região, os sedimentos apresentavam um alto teor de Co, Cu, Ni, Pb, V e Zn. Análises das amostras de fígado e músculos das espécies de peixe *Cyprinion macrostomus* e *Garra rufa* revelaram altas concentrações de Cu, Ni e Zn, evidenciando a bioacumulação de metais pesados em organismos aquáticos por ingestão de partículas contaminadas.

Esse tipo de contaminação apresenta grande risco à saúde humana, uma vez que a principal rota de exposição a metais pesados é através da ingestão de organismos contaminados, tais como peixes e mariscos (FERNANDES *et al.*, 2016).

A título de exemplo de alguns dos danos causados pelos metais aos seres humanos, o arsênio apresenta uma reconhecida capacidade de indução de câncer, podendo causar câncer de pele e levar o indivíduo a óbito. O bário, apesar de não ter potencial carcinogênico documentado, em grandes quantidades pode elevar a pressão arterial, alterar o ritmo cardíaco ou causar paralisia, podendo ocasionar morte. O cádmio é um metal extremamente tóxico e cancerígeno, a exposição prolongada a ele leva a um acúmulo de metal nos rins e possíveis doenças renais, danos nos pulmões e ossos

frágeis. Em longo prazo, a exposição ao cromo pode causar danos ao fígado, ao sistema circulatório renal e aos tecidos nervosos, bem como irritação de pele. O chumbo é capaz de afetar todos os órgãos e sistemas do corpo humano. Em concentrações elevadas, esse metal pode prejudicar gravemente o cérebro e os rins e, finalmente, causar a morte. Por fim, o sistema nervoso é extremamente sensível a todas as formas de mercúrio, altos níveis podem afetar permanentemente o cérebro, rins e fetos em desenvolvimento (MARTIN; GRISWOLD, 2009)

Por conta dessas características dos metais, estudos como Hudson-Edwards *et al.* (2003), Olías *et al.* (2005) e Segura *et al.* (2016) utilizaram a concentração de metais pesados em rios contaminados pela atividade de mineração para investigar a qualidade das águas e a eventual recuperação do meio ambiente. Em complemento, foram também mensurados o pH, concentração de sólidos, de oxigênio dissolvido, dentre outros parâmetros, capazes de influir na mobilidade e na disponibilidade de metais no meio ambiente.

2.3. O uso de bioindicadores para investigar o impacto das ações antrópicas sobre os seres vivos

Os indicadores são mecanismos amplamente utilizados por especialistas e pela população em geral para mensurar o grau de adequação de dados qualitativos e quantitativos em relação a valores de referência. Eles são usados em praticamente todos os campos de estudo, tais como economia, desenvolvimento, política, saúde, entre outros. As mudanças nos indicadores específicos podem ser usadas para estimar o status de um sistema e avaliar sua evolução, progresso, melhoria ou risco; desse modo, os indicadores fornecem a base para tomada de decisões que impliquem na realização eficiente de objetivos específicos (POBLETE-NAREDO; ALBORES, 2016).

As atividades antrópicas, por vezes, modificam as condições naturais do meio ambiente. Nesse sentido, faz-se necessário o uso de sinalizadores capazes de refletir as respostas biológicas adversas às mudanças que foram impostas ao ecossistema pelo homem. A análise integrada desses diferentes tipos de respostas ao estresse tóxico oferece uma poderosa ferramenta para documentar a extensão da exposição e os efeitos da contaminação ambiental sobre indivíduos e populações expostos a poluentes, tais como metais (MUSSALI-GALANTE *et al.*, 2013).

Os estudos de García-Sevillano, García-Barrera e Gómez-Ariza (2015) e Burnat *et al.* (2009), por exemplo, destacam a importância do uso de bioindicadores no

monitoramento de regiões contaminadas por metais tanto em ambientes aquáticos como terrestres. Nesses trabalhos, as perturbações causadas nas funções biológicas ou na interação dos seres vivos serviram de parâmetro para avaliar o grau de contaminação do ambiente.

Acerca desse assunto, Medina, Correa e Carata (2007) destacam os seguintes fatores que podem refletir alterações na estrutura das comunidades biológicas e no funcionamento do ecossistema devido à exposição a substâncias tóxicas:

- i. Eliminação de espécies sensíveis devido a efeitos tóxicos diretos;
- ii. Substituição dessas espécies por grupos mais resistentes devido ao desbalanceamento nas relações de competição pela sobrevivência;
- iii. Alterações nas interações via cadeia trófica, causadas, por exemplo, pela redução de predadores naturais;
- iv. Aclimação (adaptação fisiológica) ao ambiente modificado;
- v. Seleção de tolerância geneticamente herdada (adaptação genética).

2.3.1. O uso de microrganismos para caracterização de rios brasileiros

Um dos grupos mais utilizados como bioindicadores é o de microrganismos, uma vez que constituem 2/3 da diversidade biológica do planeta (SINGH *et al.*, 2009). Além disso, a comunidade microbiana de uma região representa uma assinatura metabólica que permite diferenciá-la das demais. Por conta disso, os micróbios têm sido cada vez mais utilizados para investigar sinais de recuperação em ambientes contaminados por desastres de mineração (MUMMEY; STAHL; BUYER, 2002).

A presença de genes relacionados à resistência a metais pesados e a demais elementos tóxicos fornecem informações valiosas sobre as condições do meio ambiente após esses desastres e o impacto dos contaminantes sobre os ecossistemas, além de possibilitarem a implantação de estratégias de biorremediação mais eficazes (THAVAMANI *et al.*, 2017).

Ademais, alguns microrganismos são capazes de interferir na disponibilidade de metais no ecossistema, contribuindo, por exemplo, para sua mobilização. Esses micróbios agem catalisando reações geoquímicas através do seu metabolismo. Tais organismos são capazes de influenciar consideravelmente o estado químico e a disponibilidade dos metais. A degradação microbiana, por exemplo, pode transformar compostos orgânicos de metal sem mobilidade em formas solúveis em água. Ou ainda, a bioacumulação de metais em microrganismos, pode contribuir para redução de sua disponibilidade no meio. Portanto, a análise da estrutura microbiana impactada por

essas substâncias é fundamental para compreensão da extensão dos prejuízos causados pelo ser humano ao ecossistema, bem como para seleção de medidas de remediação eficazes (LEDIN; PEDERSEN, 1996).

Posto isto, fica evidente a relevância da compreensão da dinâmica microbiana em termos de bioindicadores. A quantidade de micróbios (abundância) e o tipo (diversidade) em um meio interferem nas condições biológicas e físico-químicas da região, facilitando ou dificultando a vida de determinados grupos de seres vivos. No entanto, o inverso também ocorre às condições do meio (tais como temperatura, pH e teor de oxigênio), ou a alteração das mesmas, atuam na seleção das formas de vida microbiana mais aptas (MADINGAN *et al.*, 2010).

A maioria dos estudos sobre as comunidades microbianas em ambientes de água doce concentra-se em ambientes lênticos, ou seja, de água parada, como lagoas (LEMKE *et al.*, 2009). Apesar disso, podemos destacar importantes estudos sobre a microbiota de rios brasileiros na literatura, o que evidencia o crescente espaço que essa análise tem conquistado.

Lopes *et al.* (2016), por exemplo, analisou a diversidade microbiana para investigar o impacto das áreas de proteção ambiental no Rio Paraguaçu, localizado no estado da Bahia. Esse estudo demonstrou que durante a estação seca regiões desprotegidas apresentavam uma alta incidência de espécies bacterianas associadas à degradação de arsênio e pesticidas, evidenciando a importância das áreas de proteção ambiental na qualidade do meio ambiente.

Oliveira e Margis (2015) analisaram o perfil bacteriano ao longo do Rio dos Sinos, localizado no Rio Grande do Sul, para investigar os efeitos das mudanças sazonais e ambientais sobre os microrganismos.

Em Ghai *et al.* (2011), por sua vez, houve uma caracterização da microbiota do Rio Amazonas, o maior rio do mundo em termos volumétricos. Já Lemke *et al.* (2009) descreveu as comunidades bacterianas do Rio Paraná.

2.3.2. As cianobactérias e o aumento de poluentes na água

Na esfera dos microrganismos, as cianobactérias constituem um grupo de bastante peculiar, não se enquadrando nem como bactérias nem como algas propriamente ditas, pois se comportam como bactérias fotossintetizantes. Estes organismos surgiram há mais de 3,5 bilhões de anos e foram os responsáveis pela

oxigenação da atmosfera, o que permitiu o surgimento de formas de vida aeróbias (MADINGAN *et al.*, 2010).

A Resolução CONAMA 357 apresenta a seguinte definição para tais organismos (Brasil, 2005):

“(...) microrganismos procarióticos autotróficos, também denominados como cianofíceas (algas azuis) capazes de ocorrer em qualquer manancial superficial especialmente naqueles com elevados níveis de nutrientes (nitrogênio e fósforo), podendo produzir toxinas com efeitos adversos a saúde”.

Nos últimos tempos, as atividades antrópicas vêm liberando no meio ambiente uma carga excessiva de rejeitos, podendo gerar a proliferação das cianobactérias em quantidades anormais. Em excesso, as cianobactérias liberam toxinas que podem resultar na mortalidade do gado e de animais domésticos, além de serem cumulativas no organismo humano podendo causar náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia e irritações na pele (BELLÉM; NUNES; MORAIS, 2013).

Vasconcelos (1999) destaca o risco de bioacumulação das cianotoxinas em organismos aquáticos como peixes, moluscos e lagostas, o que representa um potencial risco de contaminação de outros organismos, incluindo o ser humano, via cadeia trófica.

Steffen *et al.* (2012) acrescenta que as toxinas liberadas por algumas espécies de cianobactérias podem estar associadas com a indução de câncer de fígado e colorretal em seres humanos.

2.4. Análise dos bioindicadores por meio de técnicas metagenômicas

No estudo das comunidades microbianas, a análise das informações genéticas é uma importante ferramenta para identificação das espécies que compõem determinado ecossistema, bem como para verificação de padrões comportamentais similares entre diferentes regiões. A análise desses compostos possibilita também a identificação de eventuais alterações biológicas em uma localidade (COUTINHO *et al.*, 2016).

Para análise destas comunidades existem métodos clássicos que dependem do cultivo e isolamento do micróbio a ser estudado. No entanto, apenas 1% dos microrganismos pode ser cultivado com êxito em laboratório, por isso surgiram técnicas mais modernas que permitem analisar comunidades microbianas heterogêneas a partir de amostras retiradas diretamente do meio ambiente. Essa investigação do genoma independente de cultivo recebe o nome de metagenômica (SINGH *et al.*, 2009)

Ao contrário das técnicas de cultivo que produzem o sequenciamento quase que completo do genoma do micróbio estudado, na metagenômica são obtidos fragmentos de ácidos nucleicos de diferentes espécies que compõem a comunidade microbiana presente na amostra analisada. A partir das amostras coletadas do meio ambiente, sequências específicas de genes são amplificadas por meio de uma reação denominada PCR, o que garante volumes significativos de material genético e possibilita a identificação dos grupos taxonômicos e subsistemas funcionais que compõem a amostra. Para essa identificação, o material amplificado é confrontado com uma biblioteca metagenômica, onde as sequências genéticas já mapeadas encontram-se armazenadas (COUTINHO *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2009).

Apesar de nem sempre ser possível identificar a espécie a que pertence determinada sequência de DNA, a análise metagenômica apresenta uma série de avanços em relação às técnicas tradicionais (WOOLEY *et al.*, 2010). Madingan *et al.* (2010) destaca que o volume de sequências de dados obtidos nesta técnica é bastante superior ao das análises por meio de cultivo, possibilitando descobertas que antes passariam despercebidas na análise de um gene isoladamente. Além disso, o volume maior de dados auxilia o estudo da associação entre os mecanismos de adaptação dos micróbios ao meio ambiente e sua estrutura genética, permitindo identificar padrões (WOOLEY *et al.*, 2010).

O Apêndice A destrincha detalhadamente a base teórica utilizada para embasar as análises metagenômicas deste estudo.

CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1. Região de estudo na Bacia Hidrográfica do Rio Doce (BHRD)

As coletas em campo foram feitas nos meses de nov/2015 (fotos no Apêndice B), abr/2016 e set/2016 nos municípios de Bento Rodrigues (B R), Rio Gualaxo (Gua), Rio do Carmo (Car), Ipatinga (Ipa), Governador Valadares (GV), Tumiritinga (Tum), Resplendor (Res), Aimorés (Ai), Baixo Guandu (B Gua), Mascarenhas (Mas), Colatina (Col) e Linhares (Lin) afetados pelo desastre do Fundão (Tabela 6).

Uma vez que todas as coletas em campo foram realizadas após o derramamento, os dados físico-químicos históricos do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) foram utilizados, em uma análise complementar, para investigar o perfil pré-desastre do Rio Doce (Tabela 6).

Tabela 6: Municípios da BHRD em que as coletas em campo foram realizadas nos meses de nov/15, abr/16 e set/16. Municípios monitorados pelo IGAM e que foram usados para traçar o perfil pré-derramamento do Rio Doce.

Municípios	Coordenadas (S/W) das coletas em campo	nov/15	abr/16	set/16	Dados históricos IGAM
Bento Rodrigues	20°14'24"/43°25'12"		X	X	
Gualaxo	20°17'24"/43°4'12"		X		
Rio do Carmo	20°17'24"/43°3'0"		X		
Ipatinga	19°28'48"/42°28'48"	X		X	X
Governador Valadares	18°52'12"/41°57'0"	X	X		X
Tumiritinga	18°58'48"/41°38'24"	X	X		
Resplendor	19°20'24"/41°14'24"	X	X	X	X
Aimorés	19°31'12"/41°0'36"	X	X		X
Baixo Guandu	19°27'0"/41°5'24"		X		
Mascarenhas	19°30'0"/40°54'36"		X		
Colatina	19°32'24"/40°38'24"	X	X		
Linhares	19°24'24"/40°04'04"	X	X	X	

3.2. Procedimentos adotados para coleta e processamento de material obtido em campo

Os procedimentos descritos nesta seção foram adotados nas coletas realizadas no RD em nov/2015, abr/2016 e set/2016. Parte da água coletada foi trazida a Universidade

Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), onde o DNA foi extraído no laboratório de microbiologia Thompson Lab, em seguida, os metagenomas foram sequenciados e as sequências foram anotadas através da tecnologia de subsistemas no Núcleo Prof. Rogério Valle de Produção Sustentável (SAGE). O restante do material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) onde foram feitas as análises físico-químicas.

3.2.1. Procedimentos para análise dos dados físico-químicos coletados em campo

As amostras de águas foram coletadas no ponto central (1 amostra em cada ponto) das estações fluviais de cada município analisado. Os parâmetros físico-químicos foram medidos diretamente no campo através de sondas portáteis, previamente calibrados com padrões em cada estação de amostragem. Em campo, todos os equipamentos eram ligados aproximadamente 15 minutos antes das medições para que fossem estabilizados e devidamente calibrados com segurança.

Na determinação do oxigênio dissolvido, a sonda foi previamente calibrada com valores padrão através do método potenciométrico clássico de Winkler (MONTGOMERY; THOM; COCKBURN, 2007). Os valores de oxigênio em uma amostra previamente coletada foram utilizados como base para aferir a exatidão do método.

Para determinação dos metais na fase dissolvida, amostras de 1 L de água foram filtrados em campo, acidificados a pH 2 (HCl 30% Suprapure®, MERCK, Alemanha) com HNO₃ e acondicionados em frascos de polipropileno sob refrigeração e trazidas ao Laboratório de Ciências Ambientais (LCA), da UENF. Uma alíquota da amostra bruta (sem filtrar) foi acidificada, estocada em frascos de polipropileno e mantida sob refrigeração até a determinação dos elementos por Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma (HATJE *et al.*, 2017).

A matéria orgânica dissolvida e particulada, Carbono Orgânico Dissolvido (COD) e Carbono Orgânico Particulado (COP), e o Nitrogênio Total Dissolvido (NTD) e Nitrogênio Total Particulado (NTP) foram filtrados em membranas de fibra de vidro previamente tratados termicamente (350°C/3h). O material retido no filtro foi usado para o cálculo do Material Particulado em Suspensão (MPS) através da diferença do peso final menos o peso inicial, após secagem em estufa a 80°C por 72h.

3.2.2. Extração de DNA metagenômico das amostras de água doce

Inicialmente cerca de 6 l de água foram coletados próximos à superfície (<1 m) em cada um dos municípios que compõe a região de estudo no RD (Tabela 6). Não foram coletadas réplicas. Em seguida o material foi filtrado por meio de filtro Sterivex de 0,22 µm, 1,5 l por filtro (4 filtros por amostra), e o DNA total extraído.

3.2.3. Construção e sequenciamento da biblioteca Illumina dos metagenomas do RD

As bibliotecas de DNA foram preparadas usando um kit de preparação de amostras Nextera (Illumina). A distribuição do tamanho da biblioteca foi avaliada utilizando um modelo de Bioanalisador Agilent 2100 e um kit de DNA de alta sensibilidade (Agilent). Em seguida, a mesma foi quantificada usando um sistema de ACP em tempo real (*Applied Biosystems 7500*) e um kit de quantificação de biblioteca (Kapa Biosystems). O controle de sequenciamento PhiX v3 (Illumina) foi adicionado a 1%, e o sequenciamento dos reads emparelhados (2 x 300 bp) foi realizado em um sistema MiSeq (Illumina) (SILVA *et al.*, 2017).

3.3. Escolha de um rio brasileiro não impactado por atividade de mineração como controle

Todas as amostras de água coletadas em campo foram extraídas do RD após o rompimento da barragem de rejeitos da Samarco, o que impossibilitou a análise metagenômica comparativa entre o perfil microbiano anterior e posterior ao desastre. Infelizmente, também não existem publicações na literatura nem em relatórios oficiais de um monitoramento microbiano de amostras de água da região por meio de metagenomas que suporte essa análise.

Tendo em vista essas limitações, foram utilizados dados metagenômicos de um rio brasileiro sem histórico de contaminação por atividades de mineração, de modo a estabelecer uma análise comparativa entre a microbiota do RD e a microbiota de um rio em condições mais saudáveis. O principal intuito dessa abordagem foi evidenciar possíveis divergências taxonômicas e metabólicas causadas pelo desastre.

Os critérios adotados para seleção de um rio brasileiro sem histórico de atividades de mineração foram: primeiramente, os dados metagenômicos desse rio deveriam estar disponíveis para serem processados computacionalmente em conjunto com os dados do RD, de maneira a eliminar possíveis divergências metodológicas. Em

segundo lugar, os dados deveriam conter amostras das estações chuvosas e seca de modo a reduzir o impacto do regime pluviométrico sobre a composição microbiana.

Como os metagenomas do Rio Paraguaçu (PAR), originalmente descritos por Lopes *et al.* (2016), estavam disponíveis para re-processamento e preenchiam todos os critérios estabelecidos, esse rio foi escolhido como controle. O Rio Paraguaçu está localizado no bioma Cerrado (LOPES *et al.*, 2016), enquanto o Rio Doce pertence, em sua maioria, ao bioma Floresta Atlântica (AIRES *et al.*, 2018), contudo conforme destacado por Méio *et al.* (2003) e Oliveira-Filho e Fontes (2000) a influência da Floresta Atlântica na biota do Cerrado é bastante significativa, o que possibilita a adoção do PAR como região de controle na ausência de análises metagenômicas no RD antes da ruptura da barragem do Fundão.

3.4. Análises computacionais dos metagenomas do RD e do PAR

As seqüências Illumina obtidas nas coletas no Rio Doce em nov/2015, abr/2016 e set/2016 e também as seqüências referentes aos metagenomas do Rio Paraguaçu foram pré-processados usando o software Prinseq (<https://sourceforge.net/projects/prinseq/>) para remover leituras menores que 35 pb e seqüências com resultados de qualidade inferiores a Phred 20, conforme descrito por Tschoeke *et al.* (2017).

Em seguida, o programa PEAR (<http://www.exelixis-lab.org/web/software/pear>) foi usado para mesclar e estender os reads emparelhados das seqüências Illumina usando parâmetros de referência com sobreposição máxima de 580 pb (TSCHOEKE *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2014). As leituras resultantes foram analisados contra o banco de dados de proteínas do GenBank (Nr) usando o software Diamond (<https://github.com/bbuchfink/diamond>) com parâmetros padrão, limitado as cinco seqüências mais similares e e-value = 1e-5 (BUCHFINK; XIE; HUSON, 2014).

Os resultados da busca com o Diamond foram processados usando usando a versão acadêmica do software MEGAN 6 (<http://ab.inf.uni-tuebingen.de/data/software/megan6/download/welcome.html>) e a atribuição taxonômica das seqüências foi obtida usando o método do último ancestral em comum com os parâmetros padrão (HUSON *et al.*, 2007, 2011).

3.5. Base de dados limnológica aberta da Bacia do Rio Doce

Desde 1997, o projeto “Água de Minas” desenvolvido pela Secretaria Municipal de Administração de Minas Gerais (SEMAD) monitora parâmetros físico-químicos e biológicos de diversos municípios da Bacia do Rio Doce. Essa base de dados é disponibilizada para acesso gratuito no portal eletrônico (<http://portalinfohidro.igam.mg.gov.br/serie-historica>) do Instituto de Gestão das Águas de Minas Gerais (IGAM, 2017).

A base de dados do IGAM foi usada para investigar as condições de pré-ruptura da barragem Fundão, pois todas as coletas em campo foram realizadas após o derramamento. Além disso, devido a maior cobertura temporal da base dados do IGAM, a mesma também foi usada de forma complementar as amostras de campo na análise do panorama pós-desastre.

Os municípios amostrados nas coletas de campo e também monitorados pela base de dados da IGAM foram selecionados na base de dados públicos para investigar o panorama antes e depois da ruptura da barragem do Fundão. Os municípios extraídos da base de dados do IGAM foram Aimorés, Governador Valadares, Resplendor e Ipatinga (Tabela 7).

Tabela 7: Distância dos municípios selecionados na base de dados do IGAM aos pontos correspondentes coletados em campo

Municípios (SEMAD)	Coordenadas (S/W)	Distância em relação aos respectivos pontos coletados em campo (km)
Aimorés, Baixo Guandu	19°30'36"/41°0'36"	1,11
Governador Valadares	18°52'48"/41°57'0"	1,11
Ipatinga	19°29'24"/42°29'24"	1,52
Resplendor	19°21'0"/41°14'24"	1,11

3.5.1. Análises estatísticas

A análise de componentes principais (ACP) é uma técnica de estatística multivariada que explica a variância e a covariância de um vetor aleatório, composto por p-variáveis aleatórias através da construção de uma combinação linear das p-variáveis originais (MINGOTI, 2005).

As componentes principais (CP) são vetores resultantes das combinações lineares das variáveis originais ortogonais entre si e altamente correlacionadas em um espaço multidimensional. Para integrar o conjunto de CP os fatores devem possuir autovalor superior a 1, de modo que qualquer componente contribua mais para variância

do conjunto de dados do que uma única variável (ANDRADE *et al.*, 2008). Além disso, as CP são organizadas pela ordem decrescente de variância, desse modo, as informações mais relevantes para descrição do sistema ficam sempre concentradas nas primeiras componentes, reduzindo a dimensionalidade do conjunto de dados original (SOUZA, 2010).

Nesse estudo, a ACP foi calculada por meio dos dados históricos da base de dados IGAM, com o objetivo de identificar os parâmetros físico-químicos mais afetados após o desastre do Fundão.

A ACP foi calculada por meio do software RStudio, versão 1.0.143 (<https://www.rstudio.com/products/rstudio/download/#download>) , desenvolvido pela Fundação do Software Livre R para Estatística (R FOUNDATION, 2005).

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS

4.1. Análises físico-químicas das amostras do RD coletadas em campo

As análises físico-químicas revelaram que imediatamente após o rompimento da barragem do Fundão (coleta de nov/2015), os parâmetros turbidez, Al, Fe e Mn estavam bem acima da legislação nacional. O parâmetro turbidez encontrava-se entre 10 e 67 vezes maior do que o valor de referência (100 UNT) recomendado pela Resolução CONAMA 357 nos municípios analisados. Já os valores de alumínio dissolvido (Al) e ferro dissolvido (Fe) estavam acima da legislação entre 18 – 135 vezes e 25 – 44 vezes, respectivamente. O parâmetro manganês total (Mn) esteve em conformidade na primeira coleta nos municípios mais afastados do derramamento: Aimorés, Colatina e Linhares. Contudo os municípios mais próximos ao desastre Ipatinga, Governador Valadares, Tumiritinga e Resplendor estiveram desconformes, 10, 6, 3 e 4 vezes acima do permitido, respectivamente. Ademais, observou-se que na maior parte dos municípios analisados (Ipatinga, Tumiritinga, Resplendor, Aimorés e Linhares), o parâmetro oxigênio dissolvido encontrava-se abaixo do valor de referência da resolução (Tabela 8).

Na ausência de valores de referência nacionais para o parâmetro sólidos em suspensão totais (SST), a legislação do estado de Minas Gerais - COPAM/CERH-MG Nº 1 - foi adotada. Verificou-se que em nov/2015, esse parâmetro excedeu a legislação mineira em todos os municípios analisados entre 3 e 19 vezes.

Não foram detectadas desconformidades físico-químicas nos dados relativos às coletas de campo de abr/2016 e set/2016

Tabela 8: Parâmetros físico-químicos que apresentaram variação entre as coletas de nov/2015, abr/2016 e set/2016 nas regiões de Bento Rodrigues (B R), Rio Gualaxo (Gua), Rio do Carmo (Car), Governador Valadares (GV), Tumiritinga (Tum), Resplendor (Res), Baixo Guandu (B Gua), Mascarenhas (Mas), Colatina (Col) e Linhares (Lin)

		pH	O2 (mg/L)	Cond (µS/cm)	Turb (NTU)	SST (mg/L)	NTP (mg/L)	Fe (mg/L)	Al (mg/L)	Ba (mg/L)	Pb (mg/L)	Cr (mg/L)	Mn (mg/L)	Ni (mg/L)	Zn (mg/L)
	CONAMA 357	6 a 9	≥ 5	-	≤ 100	100	-	≤ 0.3	≤ 0.1	≤ 0.7	≤ 0.01	≤ 0.05	≤ 0.1	≤ 0.025	≤ 0.18
nov/15	Ipa	6.6	4.7	120	6750	1877	1.8	8.4	1.8	0.1	<0,004	0.015	1	<0,004	0.03
	GV	7.1	5.1	81	3843	906	1.2	9.1	2.8	0.08	<0,004	0.011	0.6	<0,004	0.07
	Tum	6.8	4.2	100	2630	1411	2.8	9.4	6.5	0.08	<0,004	<0,004	0.3	<0,004	0.03
	Res	6.8	4.4	100	6018	808	1.3	7.4	4.6	0.11	<0,004	0.015	0.4	<0,004	0.02
	Ai	6.6	4.5	122	960	305	0.7	11.3	9.4	0.07	<0,004	0.006	0.1	<0,004	0.02
	Col	7.4	6.2	118	1179	350	0.8	12.4	10.8	0.06	<0,004	<0,004	0.1	<0,004	0.03
	Lin	7.6	4.3	107	2704	1071	2.0	13.2	13.5	0.08	<0,004	0.010	0.1	<0,004	0.05
abr/16	Gua	7.5	5.8	68	3	157	0.2	0.12	<0.007	0.16	<0,004	0.009	0.27	<0,004	0.03
	Car	7.5	6	69	70	8	0	0.18	<0.007	0.07	<0,004	<0,004	0.09	<0,004	0.03
	GV	7.1	6.2	87	11	14	0.1	0.06	<0.007	0.08	0.005	0.006	0.03	<0,004	0.04
	Tum	7.6	5	91	14	19	0.1	0.02	<0.007	0.03	<0,004	0.005	0.04	0.012	0.05
	Res	7.4	5	98	12	14	0.1	0.02	<0.007	0.06	<0,004	0.011	0.02	0.01	0.05
	Ai	7.9	5.2	73	14	9	0.1	0.03	<0.007	0.02	<0,004	0.005	0.1	0.007	0.04
	B Gua	8.2	4.1	1256	13	24	0.1	0.02	<0.007	0.07	<0,004	<0,004	0.01	<0,004	0.02
	Mas	8.0	7	41	18	13	0.1	0.57	0.5378	0.29	<0,004	<0,004	0.02	0.021	0.02
	Col	8.0	6	46	17	16	0.1	0.11	0.0931	0.08	<0,004	<0,004	0.02	0.007	0.02
	Lin	8.1	6.05	89	17	19	0.07	0.04	<0.007	0.05	<0,004	<0,004	0.02	0.005	0.02
set/16	B R	8.54	5.6	102	27	58	0.1	0.023	<0.0007	0.03	<0,0019	<0,0003	0.135	<0,0003	0.02
	Ipa	7.68	5.9	130	50	65	0.1	0.012	<0.0008	0.02	<0,0019	<0,0003	0.098	<0,0003	<0,0018
	Res	7.64	4.9	176	5	13	0.1	0.001	<0.0009	0.03	<0,0019	<0,0003	0.000	<0,0003	0.02
	Lin	8.19	5.09	175	13	29	0.10	0.03	0.01	0.02	<0,0019	<0,0003	0.020	<0,0003	<0,0018

4.2. Análise dos dados de monitoramento limnológico do IGAM antes e após o desastre

Para investigar os impactos da ruptura da Barragem da Samarco sobre os parâmetros físico-químicos do Rio Doce, uma verificação inicial foi feita por meio da técnica de Análise de componentes principais (ACP), considerando os meses monitorados pelo IGAM nos anos de 2014, 2015 e 2016.

Essa análise revelou três perfis principais de agrupamento dos dados: Grupo 1 (G1), contendo os meses imediatamente após o derramamento, dez/2015 e jan/2016, Grupo 2 (G2) contendo a maior parte dos meses de 2014 e 2015 antes da ruptura, assim como a maioria dos meses entre fev/2016 e nov/2016 e o Grupo 3 (G3) correspondente ao Dez/2016 (Fig. 9).

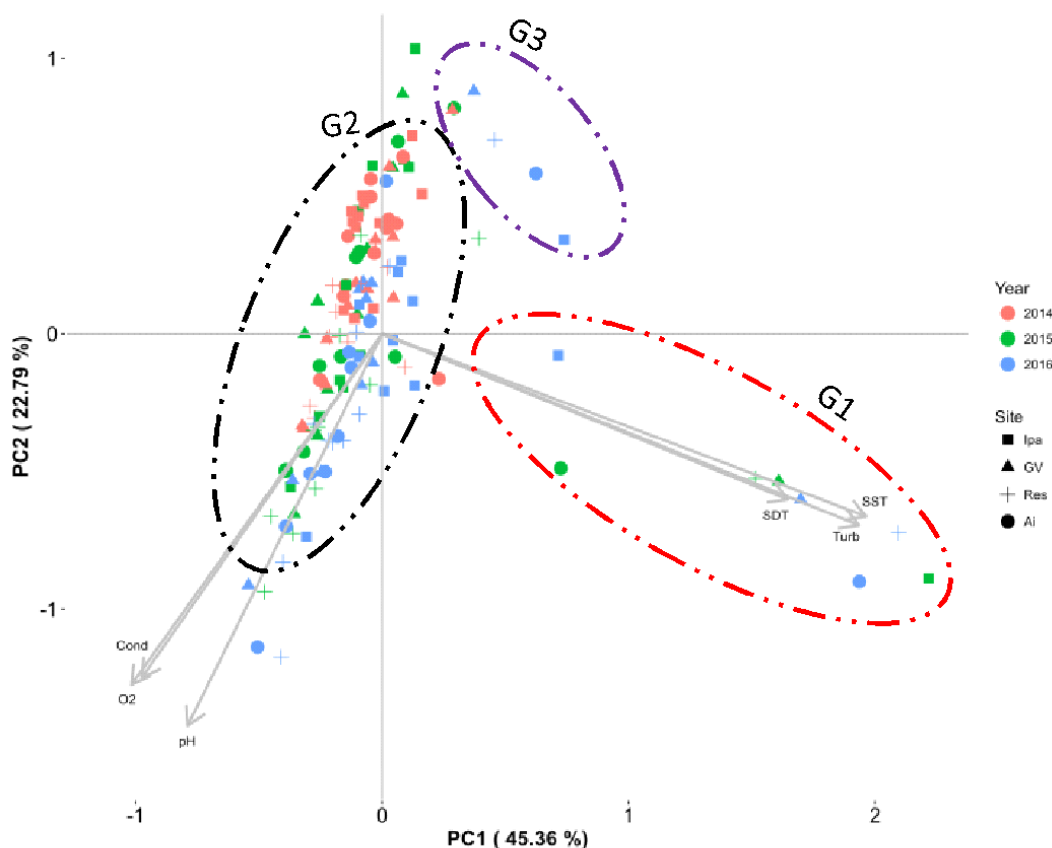


Figura 9: Análise de componentes principais (ACP) usando dados históricos do IGAM anteriores a ruptura da Barragem do Fundão (os meses de 2014 e o intervalo entre Jan/2015 e Out/2015) e pós-desastre (Dez/2015 e os meses de 2016) para os parâmetros turbidez (Turb), pH, oxigênio dissolvido (O2), condutividade elétrica (Cond), sólidos dissolvidos totais (SDT), sólidos em suspensão totais (SST), arsênio total (As), alumínio dissolvido (Al), cobre dissolvido (Cu), ferro dissolvido (Fe), cromo total (Cr), cádmio total (Cd), chumbo total (Pb), manganês total (Mn), mercúrio total (Hg) e níquel total (Ni) nos municípios de Aimorés, Governador Valadares, Resplendor e Ipatinga. Os dois eixos da ACP têm um poder explicativo de ~68%.

Em seguida foi feita uma análise mais profunda considerando os mesmos parâmetros usados na ACP e um horizonte temporal expandido, do ano 2000 até o ano de 2016 (Apêndice C). O conjunto de dados do ano 2000 até 2015, esse último contabilizado apenas até o mês de outubro, foi considerado para construção do panorama físico químico anterior ao derramamento. A análise dos momentos posteriores a tragédia foi feita tendo por base o padrão de clusterização dos dados revelada pela ACP (G1 e G3). Do grupo G2 foram considerados apenas os meses de 2016 (G2').

Os valores encontrados para cada um dos momentos (pré-derramamento, G1, G2' e G3) foram confrontados com os valores de referência da Resolução CONAMA 357. Os parâmetros turbidez, pH, oxigênio dissolvido, SDT, As total, Al dissolvido, Cu dissolvido, Fe dissolvido, Cr total, Cd total Pb total, Mn total, Hg total e Ni total têm valores de referência discriminados na legislação nacional e foram investigados. O parâmetro SST, apesar de não ter um valor padrão determinado pela CONAMA 357, está contemplado na legislação do estado de Minas Gerais - COPAM/CERH-MG N° 1 - sendo, portanto, adotada a medida indicada por essa.

Os resultados desta análise revelaram uma contaminação por Hg anterior ao desastre nos municípios de Ipatinga, Governador Valadares, Resplendor e Aimorés. Em todo período de análise esse parâmetro manteve-se cerca de 1000 vezes acima do recomendado pela CONAMA 357. Em relação ao parâmetro Mn, apenas a região de Ipatinga possuía registros acima do referencial legislativo antes da ruptura da barragem da Samarco, $0,2 \pm 0,02$ mg/L enquanto o referencial é de até 0,1 mg/L. No entanto, logo após o rompimento, no mês de jan/2016 verificou-se um pico acentuado deste parâmetro em todos os municípios analisados, cerca de 7 vezes o valor de referência em Ipatinga, 52 vezes em Governador Valadares, 33 vezes em Resplendor e 16 vezes em Aimorés. Nos meses posteriores, o parâmetro se regularizou com valores próximos a condição anterior à tragédia.

Já o parâmetro turbidez que anteriormente apresentava valores históricos dentro da normalidade, nos meses de dez/2015 e jan/2016 foi registrado com medidas entre 30 e 70 acima do permitido. Em seguida, no período entre fev/2016 e nov/2016, com exceção da região de Ipatinga, os demais municípios mantiveram se dentro dos padrões CONAMA 357. Contudo, em dez/2015, os valores de turbidez tornaram a se elevar acima dos valores estabelecido nesta resolução. O mesmo verificou-se com o SST.

4.3. Análise metagenômica comparativa entre as amostras do RD ao longo do tempo e em relação ao PAR

Amostras coletadas no RD em nov/2015, abr/2016 e set/2016 foram utilizadas para o monitoramento do perfil da estrutura microbiana ao longo do tempo após o derramamento de rejeitos da Samarco. Ademais, a fim de investigar as principais similaridades e divergências no perfil das comunidades de micróbios e na assinatura metabólica das amostras do RD e de um rio brasileiro sem histórico de poluição por mineração, uma comparação metagenômica entre o RD e o Rio Paraguaçu (PAR) foi feita.

4.3.1. Características gerais das sequências metagenômicas do Rio Doce

Após o controle de qualidade, um total de 2.398.954 reads foram gerados na coleta de nov/2015, 4.787.768 em abr/2016 e 3.174.370 em set/2016 (Tabela 9). A maior parte das sequências identificadas foi pertencente ao domínio *Bacteria* (88 - 99%).

Tabela 9: Características gerais das sequências metagenômicas do Rio Doce nas coletas de nov/2015, abr/2016 e set/2016

		Reads após CQ	Eukaryota	Bacteria	Archaea	Vírus	Sequências não classificadas	Sequências taxonômicas identificadas (%)
nov/2015	Ipa	391688	1949	387389	976	1305	69	391619 - 99,98%
	GV	446105	4296	437290	2004	2397	118	445987 - 99,97%
	Tum	353210	1925	348594	1440	1170	81	353129 - 99,98%
	Res	254511	1456	247635	4523	791	106	254405 - 99,96%
	Ai	327286	1751	323340	1533	536	126	327160 - 99,96%
	Col	237989	1769	229814	997	5313	96	237893 - 99,96%
	Lin	388165	1994	381218	3149	1678	126	388039 - 99,97%
abr/2016	Gua	539309	5161	531494	372	2178	104	539205 - 99,98%
	Car	315791	4544	309487	414	1267	79	315712 - 99,97%
	GV	415966	2800	410293	584	2158	131	415835 - 99,97%
	Tum	574775	7466	562332	800	3998	179	574596 - 99,97%
	Res	382836	40841	338086	655	3086	168	382668 - 99,96%
	Ai	452082	14490	431552	768	5087	185	451897 - 99,96%
	B Gua	722814	3535	715831	738	2547	163	722651 - 99,98%
	Mas	561701	15542	540346	2139	3462	212	561489 - 99,96%
	Col	665589	5322	656114	888	3134	131	665458 - 99,98%
	Lin	156905	859	155322	113	579	32	156873 - 99,98%
set/2016	B R	597867	27418	541546	1476	26597	830	597037 - 99,86%
	Ipa	870018	9230	842600	2795	14421	972	869046 - 99,89%
	Res	766962	14762	720671	974	28899	1656	765306 - 99,78%
	Lin	939523	6068	921062	877	10636	880	938643 - 99,91%

4.3.2. Perfil taxonômico

4.3.2.1. Características gerais do domínio *Bacteria* no RD ao longo das coletas

No Rio Doce (RD), o filo dominante foi o de *Proteobacteria*. A representatividade desse grupo foi menor logo após a ruptura da barragem do Fundão e crescente ao longo do tempo, como pode ser observado na maior parte dos pontos amostrados na primeira (nov/2015), segunda (abr/2016) e na terceira coletas GV (1° - 60%; 2° - 71%), Tum (1° - 44%; 2° - 66%), Res (1° - 34%; 2° - 65%; 3° - 70%), Ai (1° - 45%; 2° - 65%), Col (1° - 45%; 2° - 81%) e Lin (1° - 34%; 2° - 86%; 3° - 56%) (Fig. 10A).

O filo *Bacteroidetes* foi o segundo mais dominante nas três coletas. No geral, as regiões amostradas mais afastadas do ponto de ruptura da barragem apresentaram uma acentuada representatividade deste filo no mês do derramamento (nov/2015) e decréscimo ao longos dos demais meses amostrados, respectivamente Res (1° - 40%; 2° - 17%; 3° - 12%), Ai (1° - 28%; 2° - 17%), Col (1° - 28%; 2° - 16%) e Lin (1° - 33%; 2° - 8%; 3° - 21%) (Fig. 10A).

Por conta da alta representatividade logo após a ruptura da Samarco, *Actinobacteria* foi o terceiro filo mais importante no RD. Nas coletas posteriores o filo apresentou acentuado decréscimo: Ipa (1° - 10%; 3° - 2%), GV (1° - 19%; 2° - 7%), Tum (1° - 25%; 2° - 9%), Ai (1° - 20%; 2° - 13%); Col (1° - 19%; 2° - 2%) e Lin (1° - 24%; 2° - 4%; 2° - 5%) (Fig. 10A).

Em set/2016, o filo *Cyanobacteria* estava aumentado em relação às demais coletas nas regiões de Res (1° - 1%; 2° - 0%; 3° - 8%) e Lin (1° - 1%; 2° - 0%; 3° - 12%). A região de B R apesar de ter sido amostrada nas outras coletas, também aparece com um alto percentual desse táxon, 20% (Fig. 10A).

No RD as famílias mais abundantes foram *Comamonadaceae* e *Burkholderiaceae*, ambas pertencentes à classe *Betaproteobacteria*. O primeiro grupo teve um comportamento crescente ao longo do tempo nas regiões de Ipa (1° - 15%; 2° - 28%), Tum (1° - 7%; 2° - 20%), Res (1° - 4%; 2° - 18%; 3° - 29%) e Ai (1° - 2%; 2° - 10%). Já o segundo apresentou o mesmo comportamento em Ipa (1° - 7%; 2° - 12%), Res (1° - 1%; 2° - 4%; 3° - 10%), Ai (1° - 1%; 2° - 3%) e Lin (1° - 1%; 2° - 2%; 3° - 4%) (Fig. 10B).

Em abr/2016, houve um abrupto aumento de representatividade da família *Moraxellaceae* nas regiões de GV (1° - 1%; 2° - 17%), Res (1° - 1%; 2° - 7%; 3° - 3%), Col (1° - 1%; 2° - 34%) e Lin (1° - 0%; 2° - 60%; 3° - 3%) (Fig. 10B).

Em set/2016, família *Synechococcaceae* (*Synechococcales*, *Cyanobacteria*) apresentou um crescimento abrupto nas regiões de Res (1° - 0%; 2° - 0%; 3° - 7%) e Lin (1° - 0%; 2° - 0%; 3° - 11%). No mesmo período B. R. também exibiu alta abundância dessa família (3° - 18%).

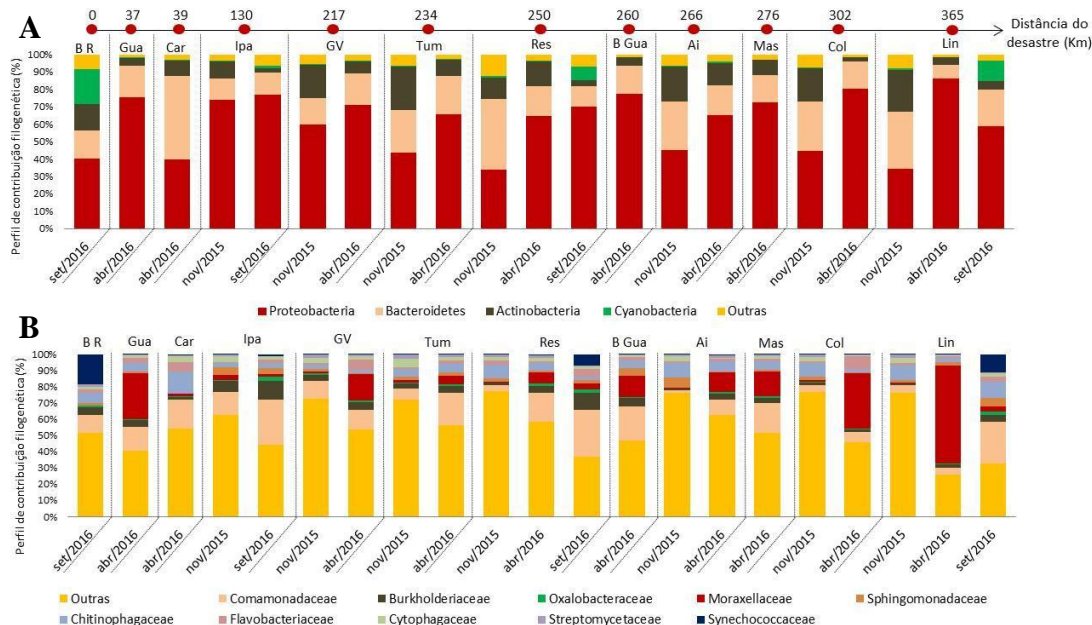


Figura 10: Classificação taxonômica dos grupos bacterianos a partir da análise dos metagenomas das amostras de água do RD nas coletas de nov/2015, abr/2016 e set/2016. Os pontos amostrados em Bento Rodrigues (B. R.), Gualaxo (Gua), Rio do Carmo (Car), Governador Valadares (GV), Tumiritinga (Tum), Resplendor (Res), Baixo Guandu (B Gua), Mascarenhas (Mas), Colatina (Col) e Linhares (Lin) estão organizados pela distância em relação à região do rompimento da barragem do Fundão e as coletas estão descritas no eixo vertical. A) Abundância relativa dos filos dominantes. B) Abundância relativa das famílias dominantes.

4.3.2.2. Análise metagenômica comparativa entre o RD e o PAR

Notou-se que a composição das comunidades bacterianas dos dois rios brasileiros é predominante composta pelos filos *Proteobacteria* (principalmente a classe *Betaproteobacteria*) e *Bacteroidetes*, seguidos pelo filo *Actinobacteria*. Sendo esse segundo filo detectado com menor abundância no PAR em comparação ao RD e o terceiro encontrado no RD em maior abundância logo após o derramamento (nov/2015).

Cabe destacar ainda, que na coleta de set/2016, o RD apresentou uma acentuada abundância do filo *Cyanobacteria*, tal comportamento diverge tanto do perfil de contribuição filogenética das demais coletas realizadas neste rio, como dos valores verificados no PAR (Fig. 11). O levantamento dos dados relativos à citometria de fluxo desse período no RD confirmou a ocorrência de floração de cianobactérias na maior parte dos municípios analisados (Apêndice D).

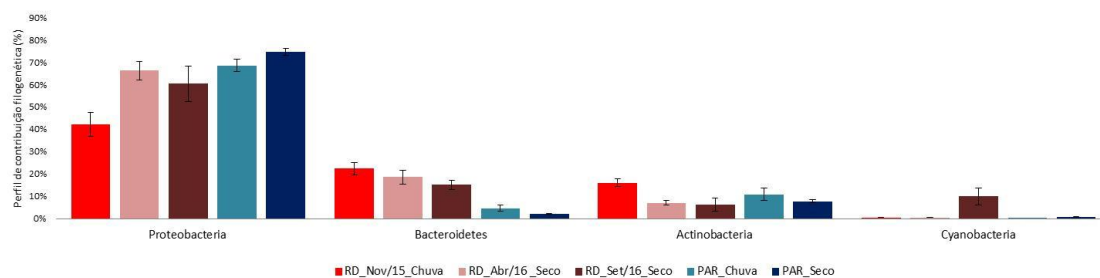


Figura 11: Abundância relativa dos três principais filos no RD e no PAR (*Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Actinobacteria*) e do filo *Cyanobacteria* que apresentou alta representatividade na coleta de set/2016 no RD. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015. Abr/2016 e set/2016.

Em relação às classes (Fig. 12), apesar do aumento da abundância de *Betaproteobacteria* no RD ao longo do tempo, esse grupo bacteriano manteve-se, de modo geral, abaixo do perfil detectado no PAR.

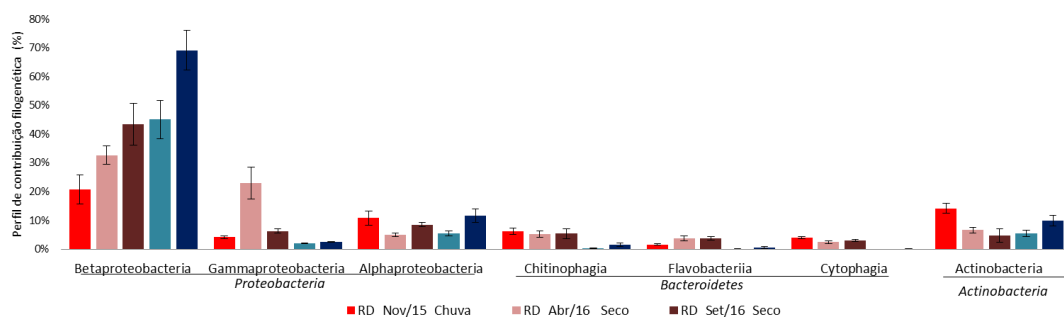


Figura 12: Abundância das sete classes dominantes no RD e identificação dos respectivos filos associados a essas classes. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015, abr/2016 e set/2016.

A família bacteriana mais abundante detectada no RD foi *Comamonadaceae* (*Burkholderiales*, *Betaproteobacteria*). *Chitinophagaceae* (*Chitinophagales*, *Bacteroidetes*) também foi encontrada com elevada abundância no RD, em contraste com a sua baixa representatividade no PAR, seguida da família *Burkholderiaceae* (*Burkholderiales*, *Betaproteobacteria*), que no PAR ocupava a primeira posição. A abundância da família *Moraxellaceae* (*Gammaproteobacteria*, *Pseudomonadales*) no RD foi muito mais elevada em abr/2016 do que em nov/2015 e set/2016. Esse valor também foi muito superior ao detectado no PAR. A família *Synechococcaceae* (*Synechococcales*, *Cyanobacteria*) apresentou um crescimento abrupto da abundância em set/2016 (Fig. 13).

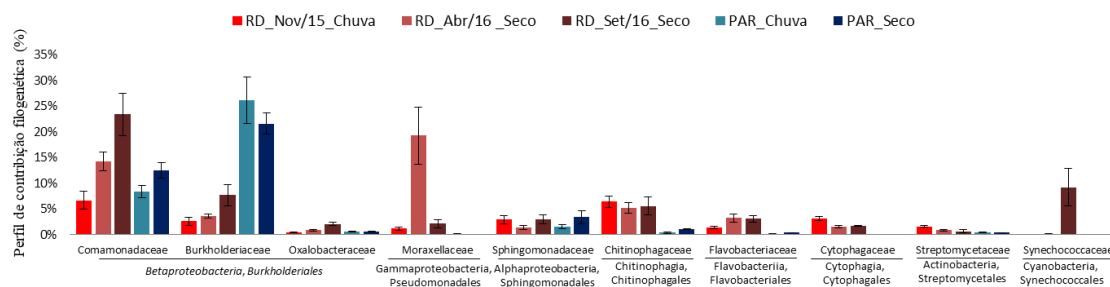


Figura 13: Abundância relativa das dez famílias dominantes no RD. Identificação das ordens e classes associadas a essas famílias. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015. Abr/2016 e set/2016.

4.3.3. Perfil metabólico

Para análise do potencial funcional, foram selecionadas as maiores diferenças observadas entre os subsistemas metabólicos do RD ao longo das coletas e em relação ao PAR com base nas categorias funcionais do SEED para o nível 1 (Fig.14).

Logo após o derramamento, na coleta de nov/2015, genes relacionados a virulência, respiração, transporte de membrana, metabolismo de ferro e nitrogênio e motilidade e quimiotaxia apresentavam-se em maior abundância. Nas coletas posteriores a contribuição dessas sequências diminuiu progressivamente, atingindo valores equiparáveis ao PAR na coleta de set/2016. Em contraste, os subsistemas pertencentes aos grupos cofatores / vitaminas / grupos prostéticos / pigmentos, aminoácidos e derivados, carboidratos, subsistemas de ácidos graxos / lipídios / isoprenóis apresentaram uma contribuição menor nov/2015 e aumento de representatividade nas coletas posteriores. Com exceção do metabolismo do subsistema de fotossíntese, os valores encontrados para essas sequências em abr/2016 e set/2016 foram similares aos do PAR. O mesmo estava em abundância em set/2016 no RD.

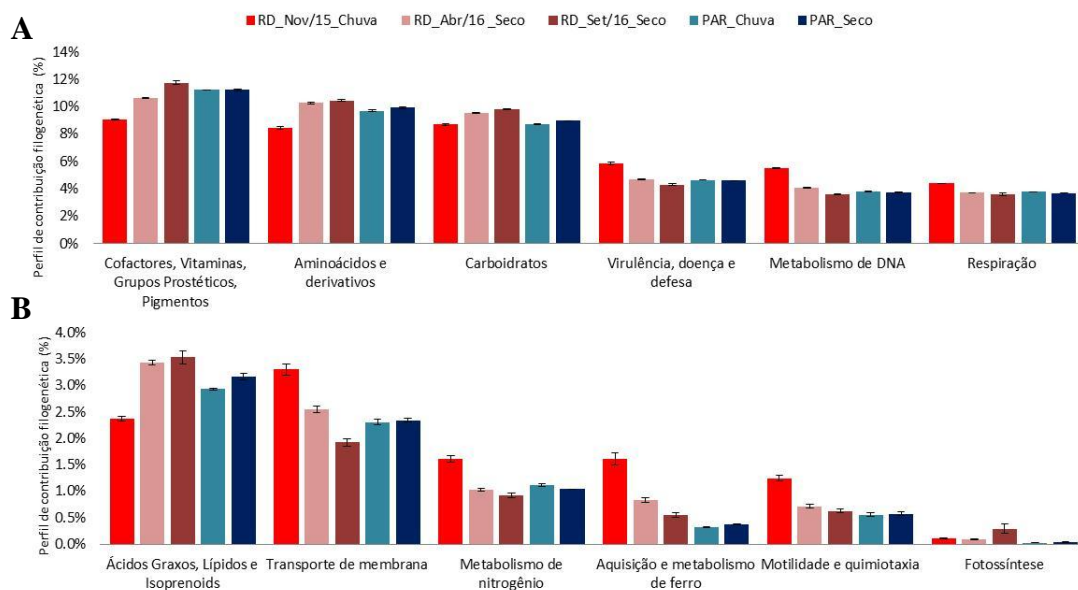


Figura 14: Diversidade funcional dos subsistemas metabólicos do RD que apresentaram as maiores diferenças ao longo das coletas e em relação ao PAR. Classificação feita por intermédio do banco de dados nível 1 do SEED do software MEGAN. Média e erro padrão de cada campanha: nov/2015. Abr/2016 e set/2016. A) Os seis subsistemas mais importantes. B) Do sétimo ao décimo segundo subsistemas mais relevantes.

CAPÍTULO 5 – DISCUSSÃO

5.1. Implicações do rompimento da barragem do Fundão sobre a qualidade da água

A análise dos dados físico-químicos da base de dados limnológica do IGAM revelou que o parâmetro turbidez elevou-se abruptamente logo após o derramamento, mantendo-se em desconformidade com a Resolução CONAMA 357 até fev/2016. Os resultados encontrados na coleta em campo de nov/2015 foram condizentes com esse perfil identificado pelos dados secundários. A desconformidade nesse indicador sugere uma forte contribuição dos rejeitos liberados no meio ambiente e do arraste de solo das margens do rio para o seu interior pela onda de lama no incremento do nível de turbidez do RD. Sendo essa a consequência ambiental imediata e mais facilmente percebida do de desastre (PINTO-COELHO, 2015; SILVA; FERREIRA; SCOTTI, 2015). No RD houve perda de aproximadamente 11.99 km² de área de vegetação, com boa parte desse material carreado para o interior do rio (AIRES *et al.*, 2018).

Além disso, também foi identificada uma queda nas concentrações de oxigênio dissolvido dos municípios em que foram realizadas coletas em campo em nov/2015. Nesse período, 71% dos municípios amostrados tinham uma concentração de O₂ inferior ao limite de 5 mg/L estabelecido pela CONAMA 357. Os dados desse parâmetro não se encontram disponíveis na base de dados secundária para nov/2015 e os valores referentes a dez/2015 não indicaram nenhuma anomalia em relação ao padrão legislativo, o que pode ser indicativo de a redução das taxas de O₂ foi um fenômeno de curta duração. Sobre essa situação, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) argumenta que os níveis extremamente altos de turbidez imediatamente após o desastre afetaram a penetração de luz solar na água do RD, causando a morte de milhares de peixes asfixia, alguns desses ameaçados de extinção (GOMES *et al.*, 2017; SEMAD, 2016). Adicionalmente, houve redução da atividade fotossintetizante dos organismos aquáticos por conta da menor incidência de luz solar, o que implicou na menor disponibilidade de alimento para os consumidores primários que se alimentam dessas formas de vida. Desse modo, os impactos desse fenômeno repercutiram em diversos elos da cadeia trófica (PINTO-COELHO, 2015).

Durante a estação seca de 2016, houve uma aparente melhora na qualidade das águas do RD impulsionada pela queda dos parâmetros turbidez e SST. ACP identificou um comportamento similar dos meses entre fev/2016 e nov/2016 e o perfil anterior ao

desastre (grupo G2). Contudo, cabe destacar que essas medições foram feitas em meses de menor volume de precipitação, majoritariamente na estação seca (CUPOLILLO, 2008). No mês de dez/2016, já na estação chuvosa, o parâmetro turbidez tornou a subir acima dos limites estabelecidos pela CONAMA 357 e da média histórica da região.

A este respeito, cabe destacar que a elevação do volume de chuvas pode ter contribuído para o transporte de sedimentos das margens para o interior do rio e também para remobilização de partículas que haviam se depositado no fundo do rio após o desastre, o que é um indicativo que a situação daquele ecossistema ainda não está totalmente estabilizada. Essa hipótese já havia sido levantada por Silva, Ferreira e Scotti (2015) e Hatje *et al.* (2017).

A expedição da ONG brasileira SOS Mata Atlântica também encontrou evidências que os sedimentos depositados no fundo do RD após o desastre de Mariana são muito sensíveis a ressuspensão. De acordo com os pesquisadores, os pontos monitorados ao longo de 733 km de rio impactado pelo desastre entre os estados de Minas Gerais e Espírito Santo apresentam uma falsa transparência das águas, ainda revelando dois anos após o vazamento de rejeitos, vestígios alaranjados de minério ao menor movimento da água por correntezas ou por ventos. Dos 18 pontos monitorados pela ONG ao longo do Rio Doce em out/2017, apenas três estavam conformes com a CONAMA 357 (SOS MATA ATLÂNTICA, 2017).

Em relação aos metais, a coleta em campo de nov/2015 evidenciou desconformidades nas concentrações de alumínio, ferro e manganês. Sendo o aumento deste último também identificado na base de dados do IGAM em jan/2016. Resultado também encontrado por Carvalho *et al.* (2017). Nas coletas de abr/2016 e set/2016 houve uma regularização dos parâmetros que estavam desconformes, o que sugere que os mesmos possam ter sofrido alteração de sua estrutura original, por processos tais como a biodegradação, ou ainda possam ter se adsorvido aos sólidos em suspensão e sedimentado no fundo do rio (COSTA *et al.*, 2008). Segundo Reis *et al.* (2016) os sedimentos são capazes de reter mais de 90% dos poluentes metálicos.

Sobre estas possibilidades, Hatje *et al.* (2017) levanta a hipótese de que o ferro presente em concentrações elevadas nos meses seguintes ao desastre possa ter se adsorvido para os rejeitos sólidos e se depositados nas margens e no fundo do RD. O grande risco de associações desse tipo, é que durante períodos de chuva intensa essas

partículas possam ser ressuspendidas, produzindo novamente altos índices de turbidez e aumento da disponibilidade de metais na água.

A análise dos dados secundários revelou também uma contaminação por Hg anterior ao derramamento da Samarco nos municípios de Ipatinga, Governador Valadares, Resplendor e Aimorés. Em todo período de análise esse parâmetro manteve-se cerca de 1000 vezes acima do recomendado pela CONAMA 357. Segundo Varejão, Bellato e Fontes (2009) as elevadas concentrações de Hg na região do Quadrilátero Ferrífero Mineiro são decorrentes do uso do metal em garimpos rudimentares desde o século XVII para exploração de ouro.

5.2. Análise metagenômica comparativa entre as amostras do RD ao longo do tempo e em relação ao PAR

5.2.1. Perfil taxonômico

Tanto o RD como o PAR apresentaram a classe *Betaproteobacteria* como dominante, observou-se ainda a maior abundância relativa da mesma na estação seca em relação a chuvosa para os dois rios, o que sugere uma possível influência dos níveis pluviométricos sobre a microbiota. Essa interferência das estações chuvosa e seca sobre a estrutura microbiana já vem sendo discutida em diversos trabalhos que fazem uso de bioindicadores, tais como Bouskill *et al.* (2010) e Patel *et al.* (2014).

Ademais, houve aumento da abundância relativa dessa classe ao longo das coletas no RD, com os menores valores registrados logo após a ruptura da barragem do Fundão em nov/2015. Os estudos de diversidade microbiana em ambientes lóticos de água doce ainda são pouco explorados a literatura atual encontra-se bastante concentrada em sedimentos (VAN ROSSUM *et al.*, 2015), o que evidencia a relevância de novos estudos aplicados a água doce. No caso dos sedimentos, a contaminação do meio aquático por metais pesados costuma vir associada ao aumento do nível de *Betaproteobacteria* (COSTA *et al.*, 2015; BOUSKILL *et al.*, 2010), divergindo, portando, do perfil identificado para água doce. De modo geral, o PAR apresentou uma abundância maior do grupo do *Betaproteobacteria* que o RD, tanto na estação chuvosa como na seca.

O filo *Bacteroidetes* apresentou-se em maior abundância no RD em relação ao PAR. Apesar disso, esse táxon teve um comportamento decrescente ao longo do tempo no RD, principalmente os membros da família *Chitinophagaceae* (*Chitinophagales*). Esse filo costuma ser associado a ambientes contaminados por metais, devido a sua

capacidade de adaptação a ambientes adversos (COSTA *et al.*, 2015). O que poderia justificar a sua maior abundância logo após o derramamento.

Além disso, de modo geral, identificou-se maior representatividade desse grupo na estação chuvosa em referência à seca, mas uma vez indicando a influência do nível de chuvas sobre os microrganismos.

A coleta de nov/2015 revelou uma representatividade da classe *Actinobacteria* (filo *Actinobacteria*) cerca de duas vezes maior do que o verificado no RD em abr/2016 e set/2016 e do que o correspondente período chuvoso no PAR. Esses organismos, apesar de também serem encontrados naturalmente em águas doces, estão tradicionalmente associados a composição bacteriana do solo (NEWTON *et al.*, 2011). Desse modo, o aumento da abundância desse grupo taxonômico pode estar associado ao arraste de solo das margens do rio para o seu interior por conta onda de lama liberada pela ruptura da barragem do Fundão, fenômeno que também contribuiu os elevados níveis de turbidez logo após o derramamento (PINTO-COELHO, 2015; SILVA; FERREIRA; SCOTTI, 2015). Além disso, a proliferação desses organismos pode ter sido favorecida pela maior disponibilidade de metais pesados no meio ambiente em nov/2015. Trabalhos como El baz *et al.* (2015), Costa *et al.* (2015) e Rho e Kim (2002) identificaram resistência do filo à presença de metais pesados em ambientes contaminados por rejeitos de minério. Nesse sentido, Li *et al.* (2016) ressalta a importância da revegetação de regiões atingidas por rejeitos de mineração na recuperação da estrutura microbiana original do solo e na sua estabilização. O que, segundo Aires *et al.* (2018), auxilia também na biorremediação dos rios, uma vez que o reflorestamento diminui a erosão das margens e o aporte de sedimentos na água.

A coleta de Set/2016 apresentou floração do filo de *Cyanobacteria*. Conforme descrito por Jardim *et al.* (2014) esse é um fenômeno recorrente no RD, principalmente durante a estação seca em que ocorrem os níveis mais baixos de temperatura, fósforo total e turbidez.

5.2.2. Análise do potencial funcional do RD e do PAR

A coleta de nov/2015, logo após o derramamento da Samarco, apresentou uma representatividade maior do potencial funcional associado aos subsistemas metabolismo do ferro e do nitrogênio em relação às demais coletas no RD e também ao perfil apresentado pelo PAR. Tal comportamento foi possivelmente induzido pelo aumento da

disponibilidade desses elementos químicos no meio ambiente, favorecendo os organismos que os sintetizam (LEDIN; PEDERSEN, 1996). .

De fato, nossos resultados comprovaram a presença de ferro em concentrações excessivas na coleta de nov/2015, o que justifica o maior potencial funcional associado ao seu metabolismo. Além disso, nesse momento a presença de nitrogênio total particulado (NTP) foi bastante superior ao verificado em abr/2016 e set/2016. Em Mariana, cidade em que ocorreu o desastre, os concentrados de minério produzidos pela Samarco costumam conter 67% de ferro, o que explica a maior abundância desse elemento logo após a ruptura da barragem (SEGURA *et al.*, 2016). Da mesma forma, a Samarco usa aproximadamente 1500 toneladas por ano de amina como reagente no processamento de minérios, sendo a maior parte descartada na forma de rejeitos ao término dos processos (BATISTELI; PERES, 2008).

Simultaneamente à redução das concentrações de nitrogênio e ferro no meio ambiente 4 meses (abr/2016) e 9 meses (set/2016) após o desastre, a representatividade dos subsistemas associados ao metabolismo desses elementos também diminuiu, se aproximando das condições de um rio sem histórico de poluição por mineração (PAR), o que evidencia uma possível mudança no curto prazo na diversidade funcional dos micróbios induzida pelos contaminantes liberados no desastre.

Além disso, os genes relacionados a virulência, doença e defesa encontravam-se em maior abundância imediatamente após a ruptura da barragem da Samarco (coleta de nov/2015), essa categoria funcional abrange compostos tóxicos (ex.: cádmio, cobalto e cobre) e, portanto, podem ser encontrados em ambientes contaminados por metais pesados (REIS *et al.*, 2016). Contudo, após 4 meses após o desastre esse subsistema o comportamento desse subsistema já estava bastante similar ao de um rio não-impactado por rejeitos de mineração, o que é condizente com a redução das concentrações de metais pesados na água no mesmo período.

Em set/2016 o metabolismo de fotossíntese foi detectado em alta representatividade no RD, o que é condizente com as florações de cianobactérias no mesmo período.

CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O rompimento da barragem do Fundão gerou consequências imediatas no curto prazo tais como o aumento da turbidez, da concentração de metais, alteração no perfil taxonômico e metabólico da microbiota local.

Durante a estação seca de 2016, a maioria dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos entrou em conformidade com os referenciais adotados (CONAMA 357 e microbiota do Rio Paraguaçu, respectivamente). Contudo com a intensificação das chuvas em dez/2016, o parâmetro de turbidez tornou a se elevar acima do referencial legislativo CONAMA 357 e das médias históricas da região, demonstrando que a situação do Rio Doce ainda não havia se estabilizado 1 ano após o desastre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, U. R. V. *et al.* “Changes in land use and land cover as a result of the failure of a mining tailings dam in Mariana, MG, Brazil”. **Land Use Policy**, v. 70, n. April 2017, p. 63–70, 2018.
- ALMEIDA *et al.* “Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident”. **Marine Pollution Bulletin**, v. 112, n. 1–2, p. 359–364, 2016.
- ANDRADE, E. M. DE *et al.* “Land use effects in groundwater composition of an alluvial aquifer (Trussu River, Brazil) by multivariate techniques”. **Environmental Research**, v. 106, n. 2, p. 170–177, 2008.
- BATISTELI, G. M. B.; PERES, A. E. C. “Residual amine in iron ore flotation”. **Minerals Engineering**, v. 21, n. 12–14, p. 873–876, 2008.
- BELLÉM, F.; NUNES, S.; MORAIS, M. “Cyanobacteria toxicity: Potential public health impact in south Portugal populations”. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues**, v. 76, n. 4–5, p. 263–271, 2013.
- BOUSKILL, N. J. *et al.* “Temporal bacterial diversity associated with metal-contaminated river sediments”. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 2, p. 317–328, 2010.
- BRASIL. **Lei nº 9.433, de 8 de Janeiro de 1997**. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei nº 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei nº 7.990, de 28 de dezembro de 1989.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA 357, de 17 de Março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos d’água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de março de 2005.
- BRASIL. Portaria MMA nº 452, de 17 de Novembro de 2011. Anexo: **Regimento Interno do Conselho Nacional do Meio Ambiente**
- BUCHFINK, B.; XIE, C.; HUSON, D. H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. **Nature Methods**, v. 12, n. 1, p. 59–60, 2014.
- BURNAT, M. *et al.* “In situ determination of the effects of lead and copper on cyanobacterial populations in microcosms”. **PLoS ONE**, v. 4, n. 7, 2009.
- CAMPEÃO, M. E. *et al.* “The deep-sea microbial community from the amazonian basin associated with oil degradation”. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JUN, p. 1–13, 2017.

- CARMO, F. F. DO *et al.* “Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context”. **Perspectives in Ecology and Conservation**, 2017.
- CARVALHO, M. S. *et al.* “Concentração de metais no rio Doce em Mariana , Minas Gerais, Brasil”. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 3, p. 37–41, 2017.
- CBH-DOCE. 2016. **A Bacia**. 2016. Disponível em: <<http://www.cbhdoce.org.br/a-bacia/>>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- CETEM. **Rompimento de barragem da Mineradora Rio Pomba Cataguases afeta qualidade da água em MG e no RJ**. 2012. Disponível em: <<http://verbetes.cetem.gov.br/verbetes/ExibeVerbete.aspx?verid=107>>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- CETEM. **Rompimento de barragem da Mineração Rio Verde, em Nova Lima (MG) deixa mortos e destruição ambiental**. 2016a. Disponível em: <<http://verbetes.cetem.gov.br/verbetes/ExibeVerbete.aspx?verid=211>>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- CETEM. **Rompimento de barragem de rejeitos de mineração de ferro em Itabirito (MG) provoca mortes**. 2016b. Disponível em: <<http://verbetes.cetem.gov.br/verbetes/ExibeVerbete.aspx?verid=209>>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- COELHO, L. N. **Bacia do Rio Doce Conceitos**. Brasília - DF: Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos - SPR, 2016.
- COPE, W. G.; LEIDY, R. B.; HODGSON, E. Classes of Toxicants: Use Classes. In: HODGSON, E. (Ed.). **Modern Toxicology**. 3. ed. Department of Environmental and Biochemical Toxicology North Carolina State University: John Wiley & Sons, Inc, 2004. p. 49–73.
- COSTA, C. R. *et al.* “A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação”. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, 2008.
- COSTA, P. S. *et al.* “Metagenome of a microbial community inhabiting a metal-rich tropical stream sediment”. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–22, 2015.
- COUTINHO, F. H. *et al.* “Metagenomics in Polluted Aquatic Environments”. **Intech**, v. 6, p. 111–133, 2016.
- CUPOLILLO, F. **Diagnóstico hidroclimatológico da Bacia do Rio Doce**. 2008. 153 f. Tese de D. Sc., Instituto de Geociências/UFGM. Belo Horizonte, 2008.
- DAVIES, M. P. “Tailings Impoundment Failures: Are Geotechnical Engineers Listening?”. **Geotechnical News**, p. 31–36, 2002.
- DIAS, A. M. DA S.; FONSECA, A.; PAGLIA, A. P. “Biodiversity monitoring in the environmental impact assessment of mining projects: a (persistent) waste of time and money?”. **Perspectives in Ecology and Conservation**, p. 4–6, 2017.
- ECOPLAN-LUME. **Plano integrado de recursos hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Doce e planos de ações para as unidades de planejamento e gestão de**

- recursos hídricos no âmbito da Bacia do Rio Doce.** 2010. Disponível em: <<http://www.cbhdoce.org.br/pirh-parh-pap/pirh>>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- EL BAZ, S. *et al.* “Resistance to and accumulation of heavy metals by actinobacteria isolated from abandoned mining areas”. **Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.
- ESPINDOLA, H. S. *et al.* “Desastre da Samarco no Brasil: desafios para a conservação da biodiversidade”. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, p. 72–100, 2017.
- ESPÓSITO, T. J. **Metodologia probabilística e observacional aplicada a barragens de rejeito construídas por aterro hidráulico.** 363 f. Tese de D. Sc., (Doutorado em Geotecnia) – Departamento de Engenharia Civil e Ambiental/UnB. Brasília, 2000.
- FARIAS, C. E. G.; COELHO, J. M. **Mineração e Meio Ambiente no Brasil.** In: Relatório Preparado para o CGEE, p. 39, 2002.
- FEAM. **Inventário de barragem do estado de minas gerais ano 2014.** Belo Horizonte, MG. 2014.
- FEAM. **Gestão de Barragens.** 2017. Disponível em: <<http://www.feam.br/monitoramento/gestao-de-barragens>>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- FERNANDES, G. W. *et al.* “Deep into the mud: ecological and socio-economic impacts of the dam breach in Mariana, Brazil”. **Natureza e Conservação**, v. 14, n. 2, p. 35–45, 2016.
- GARCÍA-SEVILLANO, M. Á.; GARCÍA-BARRERA, T.; GÓMEZ-ARIZA, J. L. “Environmental metabolomics: Biological markers for metal toxicity”. **Electrophoresis**, v. 36, n. 18, p. 2348–2365, 2015.
- GARCIA, L. C. *et al.* “Brazil’s worst mining disaster: Corporations must be compelled to pay the actual environmental costs: Corporations”. **Ecological Applications**, v. 27, n. 1, p. 5–9, 2017.
- GHR. Genetics Home Reference. **Cells and DNA.** In: Help Me Understand Genetics Cells and DNA. 2018. Disponível em: <<https://ghr.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 25 fev. 2018
- GHAI, R. *et al.* “Metagenomics of the water column in the pristine upper course of the Amazon river”. **PlosOne**, v. 6, n. 8, 2011.
- GOMES, L. E. DE O. *et al.* “The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil”. **Marine Pollution Bulletin**, v. 120, n. 1–2, p. 28–36, 2017.
- GUERRA, M. B. B. *et al.* “Post-catastrophe Analysis of the Fundão Tailings Dam Failure in the Doce River System, Southeast Brazil: Potentially Toxic Elements in Affected Soils”. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 228, n. 7, 2017.
- GÜMGÜM, B. *et al.* “Heavy metal pollution in water, sediment and fish from the Tigris River in Turkey”. **Chemosphere**, v. 29, n. 1, p. 111–116, 1994.

- HATJE, V. *et al.* “The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide”. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10706, 2017.
- HUDSON-EDWARDS, K. A. *et al.* “The impact of tailings dam spills and clean-up operations on sediment and water quality in river systems: the Ríos Agrio–Guadamar, Aznalcoílar, Spain”. **Applied Geochemistry**, v. 18, p. 221–239, 2003.
- HUSON, D. *et al.* “MEGAN analysis of metagenome data”. **Genome Research**, v. 17, p. 377–386, 2007.
- HUSON, D. H. *et al.* “Integrative analysis of environmental sequences using MEGAN4”. **Genome Research**, v. 21, n. 9, p. 1552–1560, 2011.
- IBAMA. **Impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais**. Laudo Técnico Preliminar. 2015. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/barragemdefundao/laudos/laudo_tecnico_preliminar_Ibama.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2017.
- IBRAM. **Informações sobre a economia mineral brasileira 2015**. v. 0, n. 61, p. 1–25, 2015. Disponível em: <<http://www.ibram.org.br/sites/1300/1382/00005836.pdf>>. Acesso em: 22 dez. 2017.
- IEF. **Parecer único de compensação ambiental GCA/DIAP N° 121/2014**. Instituto Estadual de Florestas (IEF), 2014.
- IGAM. **Acompanhamento da qualidade das águas do Rio Doce após o rompimento da barragem da Samarco no distrito de Bento Rodrigues**. p. 66. Mariana, 2015.
- IGAM. **Monitoramento da Qualidade das Águas Superficiais do Rio Doce no Estado de Minas Gerais**. 2017. Disponível em: <<http://www.igam.mg.gov.br/monitoramento-da-qualidade-das-aguas2/monitoramento-da-qualidade-das-aguas-superficiais-do-rio-doce-no-estado-de-minas-gerais>>. Acesso em: 13 set. 2017.
- COMITÊ INTERFEDERATIVO. Deliberação n 3, de 07/06/2016. **Ações emergenciais e prioritárias de gestão dos rejeitos a serem alcançadas em 2016**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/emergenciasambientais/deliberacao_03_07-06-2016.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- JARDIM, F. A. *et al.* “Fatores determinantes das florações de cianobactérias na água do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil”. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 19, n. 3, p. 207–218, 2014.
- KUNIN, V. *et al.* “A Bioinformatician’s Guide to Metagenomics”. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, n. 4, p. 557–578, 2008.
- LAVRADAS, R. T. **Determinação de metais (Cu, Fe, Zn, Pb, Cd e Ni) em tecidos de organismos marinhos da Baía da Ilha Grande, RJ, Brasil**. 111 f. Dissertação de M.Sc., Departamento de Química/PUC-Rio, Rio de Janeiro, 2012.

- LEDIN, M.; PEDERSEN, K. “The environmental impact of mine wastes - Roles of microorganisms and their significance in treatment of mine wastes”. **Earth-Science Reviews**, v. 41, n. 1–2, p. 67–108, 1996.
- LEMKE, M. J. *et al.* “Description of freshwater bacterial assemblages from the upper Paraná river floodpulse system, Brazil”. **Microbial Ecology**, v. 57, n. 1, p. 94–103, 2009.
- LI, Y. *et al.* “Ecological restoration alters microbial communities in mine tailings profiles”. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–11, 2016.
- LIMA, R. A. F. DE *et al.* “How much do we know about the endangered Atlantic Forest? Reviewing nearly 70 years of information on tree community surveys”. **Biodiversity and Conservation**, v. 24, n. 9, p. 2135–2148, 2015.
- LOPES, F. A. C. *et al.* “Microbial community profile and water quality in a protected area of the Caatinga biome”. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, p. 1–25, 2016.
- LÓPEZ-LÓPEZ, J. A. *et al.* “Multi-way analysis for decadal pollution trends assessment: The Guadalquivir River estuary as a case study”. **Chemosphere**, v. 111, p. 47–54, 2014.
- MADINGAN *et al.* **Microbiologia de Brock** [recurso eletrônico]. Tradução: Maranhão *et al.* 12 Ed. ed. Dados Eletrônicos. Porto Alegre. 2010.
- MARKOWITZ, V. M. *et al.* IMG ER: “A system for microbial genome annotation expert review and curation”. **Bioinformatics**, v. 25, n. 17, p. 2271–2278, 2009.
- MARTA-ALMEIDA, M. *et al.* “Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident”. **Marine Pollution Bulletin**, v. 112, n. 1–2, p. 359–364, 2016.
- MARTIN, S.; GRISWOLD, W. “Human health effects of heavy metals”. **Environmental Science and Technology Briefs for Citizens Center**. Center for Hazardous Substance Research, p. 1–6, 2009.
- MATHÉ, C. *et al.* “Current methods of gene prediction, their strengths and weaknesses”. **Nucleic acids research**, v. 30, n. 19, p. 4103–17, 2002.
- MATURANO RAFAEL. **Análise do Potencial de Liquefação de uma Barragem de Rejeito**. Dissertação de M.Sc., 2012. 103 f. PUC-Rio, Rio de Janeiro, p. 103, 2012.
- MEDINA, M. H.; CORREA, J. A.; BARATA, C. “Micro-evolution due to pollution: Possible consequences for ecosystem responses to toxic stress”. **Chemosphere**, v. 67, n. 11, p. 2105–2114, 2007.
- MEIRA, R. M. S. A. *et al.* “Brazil’s mining code under attack: giant mining companies impose unprecedented risk to biodiversity”. **Biodiversity and Conservation**, v. 25, n. 2, p. 407–409, 2016.
- MÉIO, B. B. *et al.* “Influência da flora das florestas Amazônica e Atlântica na vegetação do cerrado sensu stricto”. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 4, p. 437–444, 2003.

- MINAS GERAIS. **Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG N.º 1, de 05 de Maio de 2008.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.
- MINAS GERAIS. **Deliberação Normativa COPAM nº 62, de 17 de dezembro de 2002.** Dispõe sobre critérios de classificação de barragens de contenção de rejeitos, de resíduos e de reservatório de água em empreendimentos industriais e de mineração no Estado de Minas Gerais.
- MINAS GERAIS. **Deliberação Normativa COPAM nº 87, de 17 de junho de 2005.** Altera e complementa a Deliberação Normativa COPAM N.º 62, de 17/12/2002, que dispõe sobre critérios de classificação de barragens de contenção de rejeitos, de resíduos e de reservatório de água em empreendimentos industriais e de mineração no Estado de Minas Gerais.
- MINAS GERAIS. **Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG N.º 1, de 05 de Maio de 2008.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.
- MINGOTI, S. A. “Análise de Componentes Principais”. In: UFMG (Ed.). **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada. Uma abordagem aplicada.** Belo Horizonte. MG. 2005.
- MONTGOMERY, H. A. C.; THOM, N. S.; COCKBURN, A. “Determination of dissolved oxygen by the winkler method and the solubility of oxygen in pure water and sea water”. **Journal of Applied Chemistry**, v. 14, n. 7, p. 280–296, 2007.
- MORGENSTERN, R. R.; VICK, S. G.; WATTS, B. D. **Comitê de Especialistas para Análise da Ruptura da Barragem de Rejeitos de Fundão: Relatório sobre as Causas Imediatas da Ruptura da Barragem de Fundão.** p. 83, 2016.
- MUMMEY, D. L.; STAHL, P. D.; BUYER, J. S. “Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation”. **Applied Soil Ecology**, v. 21, n. 3, p. 251–259, 2002.
- MUSSALI-GALANTE, P. *et al.* “Biomarkers of Exposure for Assessing Environmental Metal Pollution: From Molecules To Ecosystems”. **Rev. Int. Contam. Ambie.**, v. 29, n. 1, p. 117–140, 2013.
- NEVES *et al.* “Neglect of ecosystems services by mining, and the worst environmental disaster in Brazil”. **Natureza e Conservação**, v. 14, n. 1, p. 24–27, 2016.
- NEWTON, R. J. *et al.* “A Guide to the Natural History of Freshwater Lake Bacteria”. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 75, n. 1, p. 14–49, 2011.
- ODUM, E. P. **Fundamentos de ecologia.** 6. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- OLÍAS *et al.* “Water quality of the Guadiana River after the Aznalcóllar spill (SW Spain)”. **Chemosphere**, v. 62, p. 213–225, 2005.

- OLIVEIRA, L. F. V. DE; MARGIS, R. “The source of the river as a nursery for microbial diversity”. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–11, 2015.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. “Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate”. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p. 793–810, 2000.
- PATEL, V. *et al.* “Response of bacterial community structure to seasonal fluctuation and anthropogenic pollution on coastal water of Alang-Sosiya ship breaking yard, Bhavnagar, India”. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 362–370, 2014.
- PEIXOTO, B. M. **Classificação de Sequências e Análise de Diversidade em Metagenômica**. 2013. 91 f. Dissertação de M.Sc., Instituto de Computação/Unicamp. Campinas, 2013.
- PEREIRA, E. L. **Estudo de potencial de liquefação de rejeitos de minério de ferro sob carregamento estático**. 2005. 210 f. Dissertação de M.Sc., Escola de Minas/UFOP. Minas Gerais, 2005.
- PERMAN, R. *et al.* **Natural Resource and environmental economics**. 3. ed. Harlow: Pearson Education, 2003.
- PINTO-COELHO, R. M. “Is there water governance in Brazil? The study case: The Fundão Dam Brech, Mariana (MG)”. In: **Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico**. UFMG, Belo Horizonte, p. 16 - 43. 2015.
- PIRES, A. P. F. *et al.* “Forest restoration can increase the Rio Doce watershed resilience”. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 15, n. 3, p. 187–193, 2017.
- PIRES, J. M. M. *et al.* “Potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: Estudo de caso da barragem de Germano”. **Revista Árvore**, v. 27, n. 3, p. 393–397, 2003.
- POBLETE-NAREDO, I.; ALBORES, A. “Molecular biomarkers to assess health risks due to environmental contaminants exposure”. **Biomédica**, v. 36, p. 309–335, 2016.
- R FOUNDATION. **Statutes of “ The R Foundation for Statistical Computing ” Means to Meet the Objectives**. p. 1–5, 2005.
- RAHMAN, M. S. *et al.* “Assessment of Anthropogenic Influence on Heavy Metals Contamination in the Aquatic Ecosystem Components: Water, Sediment, and Fish”. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 23, n. 4, p. 353–373, 2014.
- REDSHAW, P. *et al.* “Tailings Dam Stability”. **WLF4: 4th World Landslide Forum Advancing Culture of Living with Landslides**. p. 5–12. Eslovênia, 2017.
- REIS, M. P. *et al.* “Metagenomic signatures of a tropical mining-impacted stream reveal complex microbial and metabolic networks”. **Chemosphere**, v. 161, p. 266–273, 2016.

- RHO, J.-Y.; KIM, J.-H. “Heavy metal biosorption and its significance to metal tolerance of streptomycetes”. **Journal of Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 51–54, 2002.
- RIBEIRO, V. Q. F. **Proposta de metodologia para avaliação de rupturas de estruturas de disposição de rejeitos**. 2015. 291 f. Dissertação de M.Sc., Departamento de Engenharia de Transportes e Geotecnia/UFMG. Belo Horizonte, 2015.
- RODRIGUES, T. B. **Diversidade metagenômica microbiana de biomas terrestres e marinhos**. p. 269, 2011.
- SAMARCO. **Entenda o rompimento**. 2017. Disponível em: <<http://www.samarco.com/rompimento-de-fundao/>>. Acesso em: 17 jul. 2017.
- SANTOLIN, C. V. A *et al.* “Distribution and environmental impact evaluation of metals in sediments from the Doce River Basin, Brazil”. **Environmental Earth Sciences**, p. 1235–1248, 2015.
- SEDRU. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Regional, Política Urbana e Gestão Metropolitana. Relatório: **Avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da Barragem de Fundão em Mariana**, Belo Horizonte, 2016
- SEGOV. **Polícia Civil conclui primeiro inquérito referente ao rompimento da Barragem de Fundão**. 2016. Disponível em: <<http://www.agenciaminas.mg.gov.br/noticia/policia-civil-conclui-primeiro-inquerito-referente-ao-rompimento-da-barragem-de-fundao>>. Acesso em: 19 ago. 2017.
- SEGURA, F. R. *et al.* “Potential risks of the residue from Samarco’s mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil)”. **Environmental Pollution**, v. 218, p. 813–825, 2016.
- SEPAD. Relatório: **Avaliação dos efeitos e desdobramentos do rompimento da Barragem de Fundão em Mariana - MG**. Belo Horizonte. 2016. Disponível em: <http://www.urbano.mg.gov.br/images/NOTICIAS/2016/relatorio_final.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2017.
- SILVA, B. S. DE O. *et al.* “Virioplankton assemblage structure in the lower river and ocean continuum of the Amazon”. **mSphere**, v. 2, n. 5, p. e00366-17, 2017.
- SILVA, D. L. DA; FERREIRA, M. C.; SCOTTI, M. R. **O maior desastre ambiental Brasileiro: de Mariana (MG) a Regência (ES)**. In: Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, p. 137 - 158. 2015.
- SILVA, L. B. C. **Avaliação espaço-temporal de metais pesados no rio paraíba do sul e Rio Imbé por meio de plantas de *Eichhornia crassipes* (mart.) Solms (aguapé), séston e sedimento**. 2008. 100 f. Dissertação de M.Sc., Centro de Biociências e Biotecnologia/UENF, Rio de Janeiro, 2008.
- SINGH, J. *et al.* “Metagenomics: Concept, methodology, ecological inference and recent advances”. **Biotechnology Journal**, v. 4, n. 4, p. 480–494, 2009.

- SOS MATA ATLÂNTICA. **Observando os Rios 2017. O retrato da qualidade da água na bacia do rio Doce após dois anos do rompimento da barragem de Fundão.** [s.l.]. 2017. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2016/06/SOSMA_Observando-os-Rios-2017_RIO-DOCE_online.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2017.
- SOUZA, G. DA S. **Avaliação da bacia hidrográfica do rio Paraguaçu utilizando análise multivariada.** 2010. 112 f. Dissertação de M.Sc., Instituto de Química/UFBA. Salvador, 2010.
- STEFFEN, M. M. *et al.* “Comparative Metagenomics of Toxic Freshwater Cyanobacteria Bloom Communities on Two Continents”. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, p. 1–10, 2012.
- THAVAMANI, P. *et al.* “Microbes from mined sites: Harnessing their potential for reclamation of derelict mine sites”. **Environmental Pollution**, v. 230, p. 495–505, 2017.
- THOMAS, T. *et al.* “Metagenomics - a guide from sampling to data analysis”. **Microbial Informatics and Experimentation**, v. 2, n. 1, p. 3, 2012.
- TSCHOEKE, D. A. *et al.* “Pregnant women carrying microcephaly fetuses and Zika virus contain potentially pathogenic microbes and parasites in their amniotic fluid”. **BMC Medical Genomics**, v. 10, n. 1, p. 1–5, 2017.
- UNEP/OCHA. “Mining waste spill from the Baia Borsa processing complex in Romania, Assessment Mission to Hungary and Romania”. **Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente**, UNEP/Escritório de Coordenação de Assuntos Humanitários, OCHA, n. Março, 2000.
- VAREJÃO, E. V. V.; BELLATO, C. R.; FONTES, M. P. F. “Mercury fractionation in stream sediments from the Quadrilátero Ferrífero gold mining region, Minas Gerais State, Brazil”. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 157, n. 1–4, p. 125–135, 2009.
- VASCONCELOS, V. M. “Cyanobacterial toxins in Portugal: effects on aquatic animals and risk for human health”. **Brazilian Journal of Medical & Biological Research**, v. 32, n. 3, p. 249–254, 1999.
- WANDERLEY, L. J.; MILANEZ, B.; PINTO, R. G. “Desastre da Samarco/Vale/ BHP no Vale do Rio Doce: aspectos econômicos, políticos e socioambientais”. **Ciência e Cultura**. n. 4, p. 30–35, 2016.
- WANG, Z.; CHEN, Y.; LI, Y. “A brief review of computational gene prediction methods”. **Genomics, proteomics & bioinformatics/Beijing Genomics Institute**, v. 2, n. 4, p. 216–221, 2004.
- WISE. 2017. **Chronology of major tailings dam failures.** Disponível em: <<http://www.wise-uranium.org/mdaf.html>>. Acesso em: 14 ago. 2017.
- WOOLEY, J. C.; GODZIK, A.; FRIEDBERG, I. “A primer on metagenomics”. **PLoS Computational Biology**, v. 6, n. 2, 2010.

ZHANG, J. *et al.* "PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger".
Bioinformatics, v. 30, n. 5, p. 614–620, 2014.

APÊNDICE A: Técnicas metagenômicas para análise de diversidade microbiana

Neste apêndice serão apresentados os conceitos centrais, bem como os procedimentos necessários a utilização de técnicas metagenômicas.

A1. Princípios da biologia molecular

Para as análises envolvendo os bioindicadores nesse trabalho serão usadas técnicas e conceitos diretamente ligados a biologia molecular. Em decorrência disso, faz-se necessária uma breve contextualização no assunto, a fim de facilitar a compreensão metodológica do trabalho.

A1.1. Genoma

Segundo os preceitos da biologia molecular, a transmissão de informações hereditárias, assim como todo o processo de evolução e diferenciação das espécies estão associados ao genoma, cujas unidades funcionais são os genes. Estes são compostos pelo ácido desoxirribonucleico (DNA), que, por sua vez, é composto por sequências de bases nitrogenadas conectadas a um grupamento fosfato e a uma pentose (desoxirribose). Estas sequências funcionam como códigos de barras armazenando informações genéticas específicas, como, por exemplo, a predisposição a uma determinada doença ou ainda a resistência a determinado composto químico (GHR, 2018).

Em relação à estrutura, o DNA é composto por uma dupla hélice cujas bases nitrogenadas encontram-se ligados por meio do grupamento fosfato, de modo que o carbono 3' de uma das fitas encontra-se conectado ao carbono 5' da outra. As bases nitrogenadas não se conectam de forma aleatória, mas de acordo com o seguinte critério: a adenina encontra-se sempre pareada com timina e a guanina com citosina (MADINGAN *et al.*, 2010).

Além do DNA, as informações genéticas também se encontram armazenadas em outro tipo de nucleotídeo, o ácido ribonucleico (RNA). Essa estrutura é similar ao DNA, porém é composta de uma única fita e a sua pentose é a ribose. Além disso, a molécula de RNA não possui a base nitrogenada timina, mas em seu lugar apresenta uma base exclusiva, a uracila (PEIXOTO, 2013).

A Fig. 1 traz as estruturas das moléculas de DNA e de RNA.

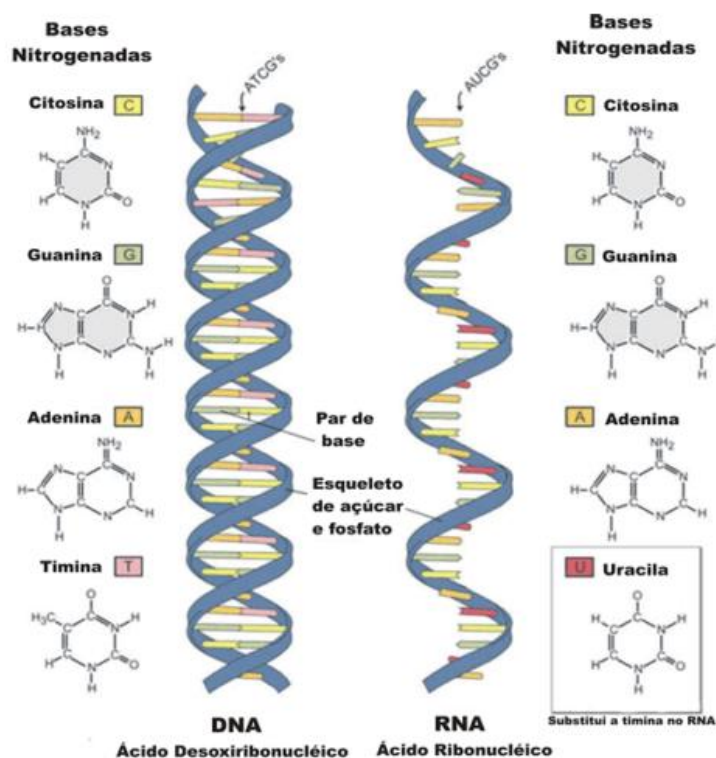


Figura A1: Estrutura das moléculas de DNA e de RNA
Fonte: (PEIXOTO, 2013)

A2. Roteiro de trabalho de uma análise metagenômica

A2.1. Amostragem e anotação dos metadados em campo

Em primeiro lugar, a quantidade e a qualidade de DNA extraído deve ser suficiente para representar de todas as células presentes na amostra (THOMAS *et al.*, 2012). Em seguida, essas amostras precisam ser filtradas de modo a se obter a maior quantidade possível do material genômico do grupo que se pretende analisar (ex.:bactérias) e descartar ao máximo os demais. Por fim, devem-se registrar detalhadamente os metadados da amostra, isto é, todas as informações adicionais sobre a coleta, tais como onde foi feita, quando, quais as condições do meio no momento da extração. Alguns exemplos de metadados ambientais são os parâmetros físico-químicos da região em que a coleta foi feita, no caso de amostras oceânicas podem ser profundidade, salinidade, intensidade de luz, pH, solubilidade de gases, entre outros (WOOLEY; GODZIK; FRIEDBERG, 2010).

A2.1 Amplificação do material genético obtido em campo por PCR

Após a extração de material genético em campo, o mesmo precisa ser ampliado de modo que o sequenciamento seja feito sobre um volume significativo de dados. A técnica mais utilizada de amplificação *in vitro* de DNA é a reação em cadeia da polimerase (PCR). Essa técnica permite que um fragmento específico de DNA seja amplificado milhares de vezes em algumas horas (Fig. 2). A PCR envolve a separação da dupla fita de DNA em altas temperaturas (desnaturação), em seguida são adicionados oligonucleotídeos de DNA (primers) que serão hibridizados nas moléculas originais de DNA durante a etapa de renaturação (em que ocorre o resfriamento da amostra). Após essas etapas, os primers são alongados com o auxílio da DNA polimerase, dobrando a quantidade de material genético original (MADINGAN *et al.*, 2010).

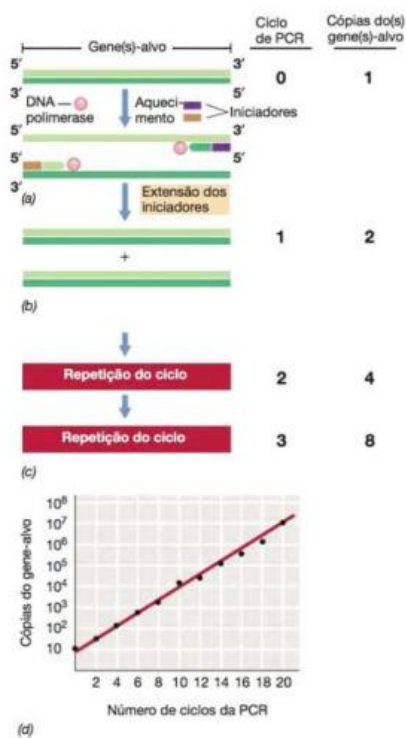


Figura A2: Reação em cadeia da polimerase (PCR). (a) O DNA-alvo é aquecido para separar as fitas. Dois iniciadores nucleotídicos, um complementar a fita-alvo e outro complementar a fita-complementar, são adicionados juntamente com a enzima DNA polimerase. À medida que a mistura é resfriada, o excesso de iniciadores complementares ao DNA molde garante que a maioria das fitas originais irá parear-se com um iniciador, ao invés de parearem-se uma com as outras (b) A DNA polimerase então promove a extensão dos iniciadores, utilizando o DNA original como molde (c) Dois ciclos adicionais de PCR geram 4 e 8 cópias de DNA original, respectivamente (d) Efeito da realização de 20 ciclos de PCR, em uma preparação de DNA original contendo 10 cópias do gene alvo.

Fonte: (MADINGAN *et al.*, 2010).

A2.2 Sequenciamento

O Sequenciamento dos fragmentos de ácidos nucleicos da amostra implica na adoção de uma série de procedimentos bioquímicos para determinação do posicionamento das bases nitrogenadas, o que é fundamental identificação da

informação genética específica contida na amostra (WOOLEY; GODZIK; FRIEDBERG, 2010).

Dentre as técnicas de sequenciamento, o pirosequenciamento se destaca pela capacidade de processamento de um grande volume de dados. Essa técnica é constituída por um sistema enzimático composto pelas enzimas DNA polimerase, responsável por catalisar a polimerização de DNA na reação de replicação, ATP sulfurilase, que catalisa a produção de pirofosfato (PPi) liberado mediante ATP durante a polimerização, luciferase, encarregada de catalisar a produção de luz a partir de ATP que é detectada durante o pirosequenciamento. Já a apirase é incluída no pirosequenciamento para a degradação dos nucleotídeos não incorporados e ATP em excesso, entre as adições das bases. A luz visível produzida na oxidação da luciferina pela enzima luciferase é proporcional ao número de nucleotídeos incorporados na sequência, desse modo os feixes de luz são detectados e formam um gráfico denominado pirograma que indica a sequência de nucleotídeos incorporados durante o sequenciamento (RODRIGUES, 2011).

A Fig. 3 esquematiza as etapas que compõem a tecnologia de pirosequenciamento.

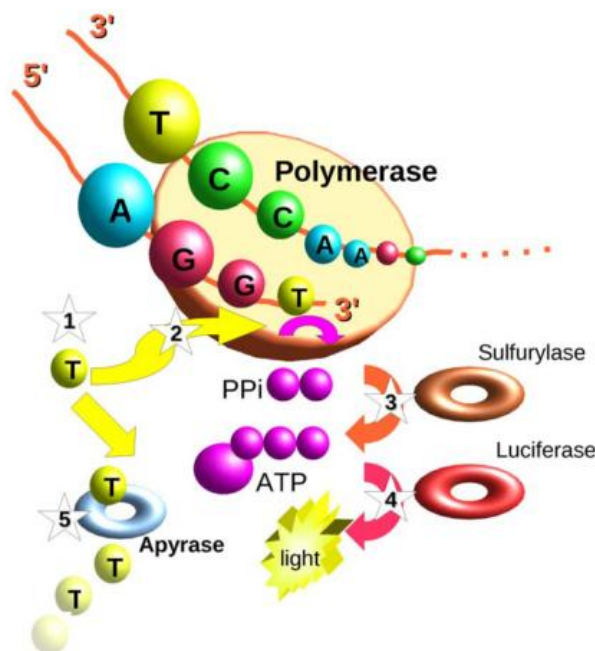


Figura A3: Etapas de pirosequenciamento: O modelo de DNA de cadeia simples é primeiro hibridado com o primer de sequenciamento e misturado com as enzimas juntamente com os dois substratos adenosina 59-fosfosulfato (APS) e luciferina. Em cada ciclo, (1) um dos quatro nucleotídeos é adicionado à reação. (2) Se o nucleotídeo é complementar à base na cadeia de molde, a DNA polimerase incorpora-o na cadeia de crescimento. (3) Pirofosfato (PPi) - numa quantidade igual em molaridade à do nucleotídeo incorporado - é libertado e convertido em ATP por sulfurilase na presença de APS. (4) O ATP serve como substrato para a luciferase, causando uma leve reação. A emissão de fótons é em quantidade

equimolar à quantidades de nucleotídeos incorporada em um determinado ciclo. (5) Os excessos de nucleotídeos são degradados pela apirase.

Fonte: (WOOLEY; GODZIK; FRIEDBERG, 2010)

A2.3 Montagem do genoma

Montagem do genoma envolve a organização dos fragmentos sequenciados (“reads”) em trechos contínuos de DNA (“contigs”) através da verificação de similaridade entre os reads e tem por objetivo a reconstrução da sequência original do ácido nucleico. Um *contig* é também chamado de sequência consenso, pois é formado pela sobreposição de um conjunto de *reads* similares. Alguns *reads* não conseguem estabelecer sobreposição com nenhum outro, ficando isolados ao fim da montagem, eles são denominados “*singlets*”. Existem, ainda, partes do genoma que não são captadas por nenhum *read*, dando origem aos denominados “*gaps*” ao término do processo. A porção do genoma reconstruída a partir dos fragmentos de DNA sequenciados, contendo os *contigs* e os *gaps*, recebe o nome de “*scaffolds*”. A razão entre o total de bases sequenciadas e o tamanho do genoma fornece a cobertura do processo, quanto maior for esse valor, mais confiável será a reconstrução do genoma original (KUNIN *et al.*, 2008).

A Figura 4 sintetiza todo o processo de montagem do genoma a partir dos fragmentos sequenciados de DNA.

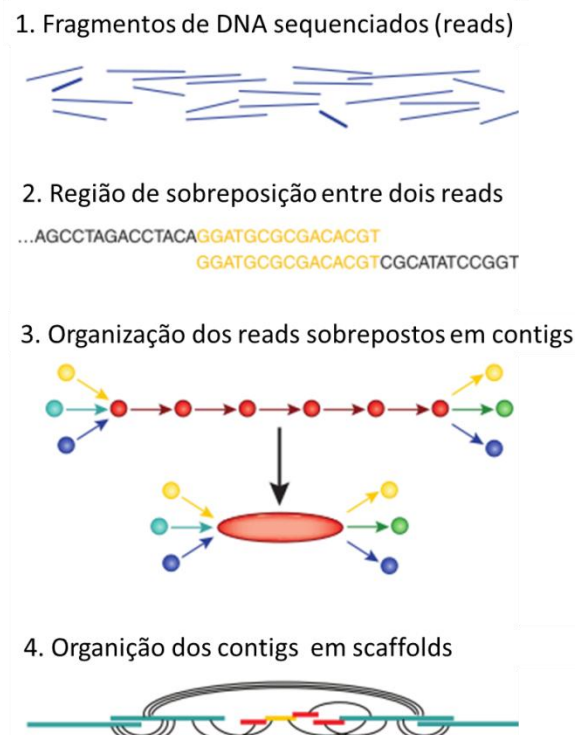


Figura A4: Etapas de montagem de um genoma a partir de fragmentos sequenciados de DNA (reads)
 Fonte: (BAKER, 2012, tradução Marcelle Cordeiro)

A2.4. Predição de genes

A predição de genes é o processo de identificação de proteínas ou sequências de RNA codificantes nas amostras de DNA. Dependendo da cobertura da montagem, a predição de genes pode ser feita em *contigs* de pós-montagem, em *singlets* e em conjuntos de *reads* e *singlets*. Os dois principais métodos usados para predição de genes são o método baseados em evidências e o método “ab initio”. O primeiro, também chamado de extrínseco, utiliza pesquisas de homologia entre os genes identificados na amostra e uma proteína ou sequência de DNA presente em um banco de dados para determinar se a região é transcrita e/ou codificação, uma das abordagens desse método é a comparação simples de algoritmos do tipo BLAST contra base de dados de proteínas. A premissa desse método é que regiões funcionais são mais conservadas evolutivamente do que regiões não funcionais. O segundo reúne características intrínsecas da sequência de DNA para discriminar regiões codificantes e não codificantes, permitindo a identificação de genes sem homólogos nas bases de dados disponíveis (KUNIN *et al.*, 2008; WANG; CHEN; LI, 2004; MATHÉ *et al.*, 2002).

A2.5. Classificação

A etapa de classificação refere-se ao processo de triagem de sequências de DNA em grupos que podem representar um genoma individual ou genomas de organismos intimamente relacionados. Os *reads* podem conter similaridades com o gene específico (etapa de predição) e essa informação pode ser usada para atribuir a sequência genética a um táxon específico. Vários algoritmos foram desenvolvidos para este fim, eles empregam dois tipos de informação contidos dentro de uma determinada sequência de DNA. Em primeiro lugar, a classificação de composição faz uso do fato de que os genomas conservaram a composição de nucleotídeos e isso também será refletido em fragmentos de sequência dos genomas. Em segundo lugar, o fragmento de DNA desconhecido pode codificar para um gene e a similaridade deste gene com genes conhecidos em um banco de dados de referência pode ser usada para classificar a sequência (THOMAS *et al.*, 2012).

A2.6. Anotação funcional

A anotação funcional dos conjuntos de dados metagenômicos é muito semelhante à anotação genômica e depende de comparações de genes preditos com sequências já previamente anotadas (KUNIN *et al.*, 2008).

Inicialmente, os fragmentos brutos de DNA (*reads*) são organizados em longas sequências de *contigs*, esses são unidos formando uma sequência rascunho (*scaffolds*) do genoma contendo os *contigs* e os *gaps* entre eles. Em seguida, ocorre a predição dos genes e a determinação do seu papel funcional no *scaffolds*. As sequências do genoma microbiano anotadas são submetidas a repositórios primários de dados de sequência pública arquivística, como o Genbank, que realizam a validação dos dados genômicos de modo a garantir a consistência do formato, e até certo ponto do seu conteúdo. As bases de dados nesses recursos possuem diferentes graus de precisão e de resolução devido aos variados métodos de anotação empregados. Os recursos públicos secundários, como o RefSeq do NCBI, processam os dados do genoma microbiano dos recursos primários com o duplo objetivo de fornecer a visão mais atual sobre as sequências e de aumentar gradualmente a qualidade e a integridade as anotações funcionais associadas via curadoria manual e computacional. Além dos recursos públicos primários e secundários, os conjuntos de dados do genoma microbiano são incorporados em uma variedade de recursos terciários, como o SEED, que ainda revisam as anotações do genoma microbiano que pode ser impreciso e esparsos (MARKOWITZ *et al.*, 2009).

APÊNDICE B: Fotografias da primeira coleta em nov/2015



Figura A5 Municípios amostrados entre 23 e 27 de nov/2015. A) Ipatinga. B) Mascarenhas. C) Colatina.
Reis, Luciana (fotógrafa) 2015

APÊNDICE C: Resultados físico-químicos da base dados limnológica do IGAM

Esse apêndice traz os resultados físico-químicos da base dados limnológica do IGAM (média e erro padrão) em quatro diferentes momentos (antes do derramamento, nos meses de dez/2015 e jan/2016, no período entre fev/2016 e nov/2016 e no mês de dez/2016) no municípios de Ipatinga (Ipa), Governador Valadares (G V), Resplendor (Res) e Aimorés (Ai)

		Turb (100 UNT)	pH (6 a 9)	O ₂ (> 5 mg/L)	SDT (≤ 500 mg/L)	SST (100 mg/L)	As total (≤ 0,01 mg/L)	Al dissolvido (≤ 0,1 mg/L)	Cu dissolvido (≤ 0,009 mg/L)	Fe dissolvido (≤ 0,3 mg/L)	Cr total (≤ 0,05 mg/L)	Cd total (≤ 0,001 mg/L)	Pb total (≤ 0,01 mg/L)	Mn total (≤ 0,1 mg/L)	Hg total (≤ 0,0002 mg/L)	Ni total (≤ 0,025 mg/L)
Ipa	2000- out/20 15	61 ± 9	6,9 ± 0	7,7 ± 0,1	45,4 ± 2,1	60 ± 7	0,001 ± 0,0003	0,11 ± 0,01	0,004 ± 0,0001	0,17 ± 0,02	0,04 ± 0	0,0005 ± 0	0,007 ± 0,001	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0	0,005 ± 0
	dez/20 15 e jan/20 16	5076 ± 2394	7,1 ± 0	7,1 ± 0	154 ± 56	1443 ± 667	0,001	0,158	0,004 ± 0	0,19	0,04	0,0005	0,01	0,65	0,2	0,00569
	fev/20 16 a nov/20 16)	261 ± 39	7,2 ± 0,1	7,6 ± 0,2	76,4 ± 6,2	136 ± 21	0,001 ± 0,0001	0,1 ± 0	0,004 ± 0	0,15 ± 0,02	0,04 ± 0	0,0005 ± 0	0,005 ± 0	0,2 ± 0,03	0,2 ± 0	0,004 ± 0
	dez/16	726	6,1	7,7	162	530	0,001	0,1	0,004	0,27	0,04	0,0005	0,005	0,695	0,2	0,004
G V	2000- out/20 15	57 ± 11	6,9 ± 0,1	7,6 ± 0,1	51 ± 2,7	38 ± 7	0,0007 ± 0,0001	0,11 ± 0	0,004 ± 0,0001	0,19 ± 0,02	0,04 ± 0,002	0,0005 ± 0	0,008 ± 0,002	0,1 ± 0,01	0,2 ± 0	0,005 ± 0

APÊNDICE D: Citometria de fluxo

Para análise de citometria de fluxo da coleta de set/2016 (Fig. 6), três alíquotas de 1,5 ml foram distribuídas em tubos criogênicos de 2,0 ml e fixadas com paraformaldeído a 1% e glutaraldeído a 0,5%. As contagens foram realizadas em um banco de dados Accuri.

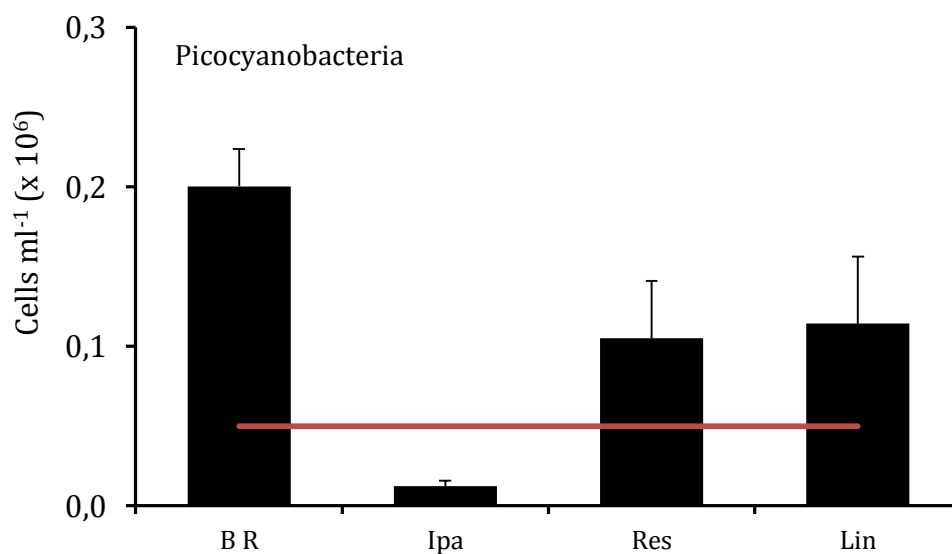


Figura D1: Densidade de cianobactérias nos municípios de Bento Rodrigues, Ipatinga e Resplendor em set/2016

APÊNDICE E: Trabalhos iniciados no mestrado

Essa seção traz os trabalhos iniciados no mestrado a partir das pesquisas para dissertação. Apesar de alguns dos trabalhos não estarem abrangidos pelo escopo desta dissertação, todos buscam compreender a situação do Rio Doce após o derramamento da Samarco e são cruciais para construção de uma visão holística da situação.

E1.Artigo 1 (autor principal)

- **Título provisório:** Metagenomics of Doce river after the Fundão mining dam disaster;
- **Breve descrição:** Esse artigo sintetiza todos os resultados da dissertação;
- **Status:** Em conclusão. Previsão de término: abr/2018.

E2.Artigo 2 (co-autor)

- **Título definitivo:** Massive destruction of Atlantic Forest caused by the rupture of the ore tailing Fundão Dam;
- **Breve descrição:** Nesse artigo foi feita uma avaliação dos efeitos do rompimento da barragem do Fundão sobre a vegetação da Floresta Atlântica na BHRD através da quantificação da cobertura florestal anterior ao desastre e da perda de vegetação após o mesmo por meio sensoriamento remoto;
- **Status:** Submetido à revista PLOS ONE;
- **Previsão de término:** Concluído.

E3.Artigo 3 (autor principal)

- **Título provisório:** Ainda sem título provisório
- **Breve descrição:** Discussão dos índices tradicionais de qualidade das águas em oposição a um índice metagenômico.
- **Status:** Iniciado.
- **Previsão de término:** Jun/2018.