

Microbiologia de Águas Subterrâneas

Ineke M. Kalwij and John A. Cherry

Tradutoras: H. Treichel, N. Klanovicz, A.F. Camargo e T. Scapini

Microbiologia de Águas Subterrâneas

The Groundwater Project

i

F. Grant Ferris

*Professor, Departamento de Ciências da Terra
Universidade de Toronto, Toronto, Ontário, Canadá*

Natalie Szponar

*Doutora, Departamento de Ciências da Terra
Universidade de Toronto, Toronto, Ontário, Canadá*

Brock A. Edwards

*Doutorando, Centro de Ciências de Observação da Terra
Universidade de Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canadá*

Tradutoras: Helen Treichel

*Professora, Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos (LAMIBI)
Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, Brasil*

Natalia Klanovicz

*Doutoranda, Grupo de Pesquisa em Processos Oxidativos Avançados (AdOx)
Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil*

Aline Frumi Camargo

*Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências
Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil*

Thamarys Scapini

*Doutoranda, Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia
Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil*

Microbiologia de Águas Subterrâneas

*The Groundwater Project
Guelph, Ontário, Canadá*

Todos os direitos reservados. Esta publicação é protegida por direitos autorais. Nenhuma parte deste livro pode ser reproduzida em qualquer forma ou por qualquer meio sem a permissão por escrito dos autores (para solicitar a permissão, entre em contato com: permissions@gw-project.org). A distribuição e reprodução comercial são estritamente proibidas.

Os trabalhos do GW-Project (Projeto Águas Subterrâneas) podem ser baixados gratuitamente e diretamente em gw-project.org. Qualquer pessoa pode usar e compartilhar os links de gw-project.org para baixar os trabalhos do GW-Project. Não é permitido disponibilizar documentos do GW-Project em outros sites. Não é permitido enviar cópias dos documentos diretamente a terceiros. Pedimos que honre esta fonte de conhecimento gratuito que está beneficiando a você e a todos que desejam aprender sobre águas subterrâneas.

Copyright © 2021 F. Grant Ferris, Natalie Szponar e Brock A. Edwards (Os Autores)

Publicado por The Groundwater Project, Guelph, Ontário, Canadá, 2021.

Ferris, F. Grant. Groundwater Microbiology / F. Grant Ferris, Natalie Szponar, and Brock A. Edwards - Guelph, Ontario, Canada, 2021.

66 p.

ISBN: 978-1-77470-005-1

Tradução: Treichel H., Klanovicz N., Camargo A.F. e Scapini T., 2022.

76 p.

ISBN: 978-1-77470-060-0

Considere se inscrever na lista de e-mail do GW-Project para manter-se informado sobre novos lançamentos de livros, eventos e formas de participar do projeto. A sua inscrição em nossa lista de e-mail é bem-vinda e nos ajuda a construir uma comunidade global de águas subterrâneas. [Inscreva-se](#).

Citação: Ferris F. Grant, Szponar Natalie, e Edwards Brock A., 2021, [Groundwater Microbiology](#). The Groundwater Project, Guelph, Ontário, Canadá.



Editores Principais: John Cherry e Eileen Poeter

Conselho: John Cherry, Paul Hsieh, Ineke Kalwij, Stephen Moran, Everton de Oliveira e Eileen Poeter

Comitê Diretor: John Cherry, Allan Freeze, Paul Hsieh, Ineke Kalwij, Douglas Mackay, Stephen Moran, Everton de Oliveira, Beth Parker, Eileen Poeter, Ying Fan, Warren Wood e Yan Zheng

Imagem da Capa: F. Grant Ferris, 2006

Tradução para o português: Helen Treichel, Natalia Klanovicz, Aline Frumi Camargo e Thamarys Scapini

Índice

ÍNDICE	IV
THE GROUNDWATER PROJECT: INTRODUÇÃO	VI
APRESENTAÇÃO	VII
PREFÁCIOS	VIII
EDIÇÃO EM PORTUGUÊS	VIII
EDIÇÃO ORIGINAL	VIII
AGRADECIMENTOS	X
AGRADECIMENTOS DAS TRADUTORAS	XI
1 INTRODUÇÃO	1
2 MICROBIOLOGIA	3
2.1 ESTRUTURA DA CÉLULA PROCARIONTE.....	4
2.2 CRESCIMENTO CELULAR E O AMBIENTE.....	8
2.3 TRANSPORTE DE MASSA E CONSIDERAÇÕES BIOENERGÉTICAS	14
2.4 GRUPOS METABÓLICOS	20
3 ÁGUAS SUBTERRÂNEAS COMO HABITATS PARA VIDA MICROBIANA	22
4 INFLUÊNCIA DOS MICRORGANISMOS NA QUÍMICA DAS ÁGUAS SUBTERRÂNEAS	26
4.1 EQUILÍBRIO QUÍMICO E TAXAS DE REAÇÃO EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS.....	26
4.2 EQUILÍBRIO DE CARBONATOS E PH DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS	28
4.3 CONDIÇÕES REDOX.....	29
4.4 COMPORTAMENTO DE BACTÉRIAS COMO SÓLIDOS GEOQUIMICAMENTE REATIVOS	33
4.5 DISSOLUÇÃO E PRECIPITAÇÃO MINERAL.....	36
5 TRANSPORTE DE MICRORGANISMOS EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS	41
6 MICROBIOLOGIA DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS APLICADA	45
6.1 BIORREMEDIÇÃO MICROBIANA E REMOÇÃO DE CONTAMINANTES DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS	45
6.2 APLICAÇÕES DE PRECIPITAÇÃO MINERAL INDUZIDA POR MICRORGANISMOS.....	48
7 CONCLUSÃO	51
8 EXERCÍCIOS	52
EXERCÍCIO 1	52
EXERCÍCIO 2	52
EXERCÍCIO 3	52
EXERCÍCIO 4	52
EXERCÍCIO 5	52
EXERCÍCIO 6	52
EXERCÍCIO 7	52
EXERCÍCIO 8	53
EXERCÍCIO 9	53
EXERCÍCIO 10	53
EXERCÍCIO 11	53
EXERCÍCIO 12	53
EXERCÍCIO 13	54
EXERCÍCIO 14	54
EXERCÍCIO 15	54
EXERCÍCIO 16	54

EXERCÍCIO 17	54
EXERCÍCIO 18	54
EXERCÍCIO 19	55
EXERCÍCIO 20	55
9 REFERÊNCIAS	56
10 RESOLUÇÃO DOS EXERCÍCIOS	66
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 1	66
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 2	66
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 3	66
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 4	66
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 5	66
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 6	67
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 7	67
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 8	67
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 9	67
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 10	68
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 11	68
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 12	68
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 13	68
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 14	68
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 15	69
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 16	69
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 17	69
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 18	69
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 19	70
RESOLUÇÃO DO EXERCÍCIO 20	70
11 SOBRE OS AUTORES	71
12 SOBRE AS TRADUTORAS	73
MODIFICAÇÕES DA VERSÃO ORIGINAL.....	A

The Groundwater Project: Introdução

O tema das Nações Unidas para o Dia Mundial da Água, em 22 de março de 2022, foi “Águas subterrâneas: Tornando o invisível visível”. Isso se alinha com a essência do The Groundwater Project (GW-Project), que visa aumentar a conscientização e fortalecer o conhecimento em águas subterrâneas no mundo. Isso vem sendo realizado por meio da publicação de livros e materiais de apoio sobre “todas as coisas que envolvem água subterrânea”.

O GW-Project é uma organização sem fins lucrativos, registrada no Canadá em 2019, e tem o compromisso de contribuir para o avanço da educação, trazendo uma nova abordagem para a criação e disseminação do conhecimento e para a compreensão e resolução de problemas. O GW-Project opera o site <https://gw-project.org> como uma plataforma global para a democratização do conhecimento das águas subterrâneas, baseando-se no princípio de que:

“O conhecimento deve ser gratuito e o melhor conhecimento deve ser o conhecimento livre.”
Anônimo

A missão do GW-Project é fornecer materiais educacionais acessíveis, engajantes, de alta qualidade, gratuitos e online em vários idiomas, para todos que desejam aprender sobre águas subterrâneas e entender como elas se relacionam e sustentam os sistemas ecológicos e a humanidade. Este é um novo tipo de esforço educacional global, baseando-se no voluntariado de profissionais de diferentes disciplinas incluindo acadêmicos, consultores e especialistas aposentados. O GW-Project conta com a expressiva participação de centenas de voluntários associados a mais de 200 organizações de mais de 14 países e seis continentes, e esses números seguem crescendo.

O GW-Project começou a publicar livros em agosto de 2020 e é um projeto em contínua expansão, com o objetivo de publicar centenas de livros online nos próximos anos. Esses livros serão publicados primeiro em inglês e depois em outros idiomas, e serão disponibilizados para download onde quer que a Internet esteja disponível. As publicações do GW-Project também incluem materiais de apoio, como vídeos, palestras, demonstrações de laboratório e ferramentas de aprendizado, além de fornecer ou vincular softwares de domínio público para várias aplicações que apoiem o processo educacional sobre águas subterrâneas.

O GW-Project é uma entidade viva, portanto edições subsequentes dos livros serão publicadas de tempos em tempos. Os leitores são convidados a propor revisões.

Agradecemos por fazer parte da comunidade do GW-Project. Esperamos seu feedback sobre sua experiência com nossos livros e materiais de apoio. Estamos abertos a ideias e voluntários!

Comitê Diretor, The GW-Project

Julho de 2021

Apresentação

A microbiologia de águas subterrâneas é o estudo dos organismos microscópicos, principalmente bactérias, que habitam os sistemas aquáticos subterrâneos. Dos tópicos que compõem a ciência das águas subterrâneas, a microbiologia passou por grandes avanços nos últimos 40 anos. Os microrganismos habitam quase todos os lugares do subsolo, mesmo sob condições adversas como alta temperatura e elevada salinidade a grandes profundidades. Os microrganismos influenciam e até mesmo podem controlar os processos geoquímicos. Portanto, são importantes para a qualidade natural das águas subterrâneas, ou seja, para as concentrações de ferro, manganês e arsênico. Juntamente com o potencial redox e o pH, a microbiota determina o odor e a cor da água de poço. Os microrganismos indicam quando o entupimento de poços é um problema e, muitas vezes, indicam se os produtos químicos antropogênicos (contaminantes) persistem nas águas subterrâneas.

Os microrganismos residiram em estratos ao longo do tempo geológico e foram ativados quando as condições ambientais mudaram. Como os seres humanos, eles precisam de energia e nutrientes (por exemplo, alimentos) para sobreviver, mas podem sobreviver por milênios com pouca disponibilidade de seus elementos essenciais à vida. No entanto, quando esses elementos são fornecidos em quantidades maiores do que o mínimo necessário, os microrganismos se multiplicam e alteram a hidroquímica. Essas mudanças podem também ocorrer em resposta às alterações do ambiente e da hidrologia causadas pelos humanos.

À medida que a água subterrânea se move ao longo de seu caminho de fluxo, das áreas de recarga para descarga, ela pode passar por estratos que não contêm microrganismos e, em seguida, passar por uma zona com condições favoráveis à vida microbiana, que por sua vez alteram acentuadamente a água subterrânea. A química das águas subterrâneas pode ser governada pelos minerais e pelos microrganismos em contato com a água ao longo de seus caminhos de fluxo. Zonas de atividade microbiana substancial podem ocupar apenas uma pequena porção do sistema de águas subterrâneas, mas podem ser a influência dominante na composição química da água em grande parte do sistema. O que a água subterrânea transporta para uma zona, o que acontece na zona e o que é transportado para fora da zona são aspectos importantes.

Este livro apresenta os princípios da microbiologia de águas subterrâneas, incluindo a estrutura e o crescimento das células microbianas, a bioenergética e o metabolismo dos microrganismos, e as influências geoquímicas e físicas nos microrganismos, com ênfase na qualidade natural da água, mas também considerando o papel dos microrganismos nas águas subterrâneas contaminadas.

Este é o primeiro livro do GW-Project escrito por um professor em colaboração com estudantes de Pós-Graduação. O GW-Project incentiva esse tipo de colaboração em equipe. O autor Dr. Grant Ferris é Professor Sênior do Departamento de Ciências da Terra na Universidade de Toronto, Canadá, e realiza pesquisas em microbiologia ambiental em muitos locais ao redor do mundo. Esse departamento também é o lar acadêmico da autora Natalie Szponar, que após uma década como hidrogeóloga consultora, atualmente é doutoranda com foco em geoquímica aquosa e isotópica. O autor Brock Edwards, cuja pesquisa está focada nas emissões de gases por vulcões ativos, é doutorando no Centro de Ciências de Observação da Terra da Universidade de Manitoba, Canadá.

John Cherry, Líder do The Groundwater Project
Guelph, Ontário, Canadá, julho de 2021

Prefácios

Edição em português

Microbiologia de Águas Subterrâneas é um livro que fala do invisível que habita o invisível. E esses invisíveis são ainda mais mágicos quando se encontram. Pode-se dizer que o estudo de microrganismos de águas subterrâneas passa duplamente a mensagem do tema das Nações Unidas para o Dia Mundial da Água de 2022. Poderíamos definir esse livro como: “Microbiologia de Águas Subterrâneas: Tornando visível o invisível que habita o invisível”.

Esse livro foi escrito baseado em dois princípios que nós, tradutoras, apoiamos muito: i) Que a microbiologia é incrível e está em todo lugar e ii) Que a educação deve ser pública, gratuita e de qualidade. Por isso lhe incentivamos a mergulhar nas próximas páginas e se deparar com muitas evidências que comprovam o quanto a microbiologia é importante e capaz de protagonizar a presença de vida em um ambiente improvável.

Este livro reúne conhecimentos básicos de microbiologia, como por exemplo a forma com a qual os microrganismos se estruturam, crescem e sobrevivem, até conhecimentos mais avançados relacionados à interação dos microrganismos com os ambientes aquáticos subterrâneos.

O conteúdo deste livro é importante para compreensão da simbiose existente entre o ambiente e a vida, tendo em vista que a diversidade microbiana muda de acordo com as características físico-químicas das águas subterrâneas, tal qual essas características da água mudam de acordo com os microrganismos presentes. Essas relações influenciam na qualidade natural da água, mas principalmente podem ser usadas a favor da recuperação da qualidade de águas subterrâneas que foram contaminadas por agentes químicos orgânicos e inorgânicos de origem antropogênica.

Esperamos que esse livro possa se tornar sua fonte de conhecimento, tanto se você for um especialista em águas subterrâneas quanto um especialista em microbiologia (ou apenas um entusiasta dessas áreas de conhecimento), e o incentivo para unir ainda mais esses invisíveis.

Edição original

A microbiologia de águas subterrâneas é o estudo dos organismos microscópicos que habitam os sistemas aquáticos subterrâneos. Por muitos anos assumiu-se que os materiais geológicos sob nossos pés eram repositórios de organismos mortos há muito tempo, em vez de habitats para seres vivos. Descobertas recentes das últimas décadas demonstraram a existência de um mundo diversificado de microrganismos vivendo no subsolo, independentes da presença de luz solar e oxigênio e, muitas vezes, prosperando sob condições físicas extremas e limitação de nutrientes.

Sistemas de águas subterrâneas são ambientes particularmente favoráveis para microrganismos, com temperaturas relativamente estáveis, fornecimento de nutrientes por meio do fluxo de água, abundância de minerais e superfícies de fratura para colonizar. Qualquer consideração sobre sistemas de águas subterrâneas deve, portanto, abordar os microrganismos que vivem lá – pois eles não são habitantes passivos. Em vez disso, as capacidades metabólicas únicas dos microrganismos os tornam agentes-chave no fluxo de energia e no processamento de compostos orgânicos e inorgânicos em ambientes subterrâneos, afetando a composição química das águas subterrâneas e as propriedades físicas dos sedimentos e formações rochosas por onde essas águas ocultas se movem.

Este livro apresenta os princípios da microbiologia de águas subterrâneas, introduzindo aspectos da estrutura e crescimento celular, da bioenergética e metabolismo de microrganismos de subsuperfície, e apresentando as influências geoquímicas e físicas da elevada atividade microbiana nos sistemas aquáticos subterrâneos e na qualidade da água. Conforme resumido nas últimas seções do livro, o acoplamento de microrganismos com seu entorno geológico – um vínculo estabelecido há bilhões de anos quando a vida se estabeleceu em nosso planeta – é de particular valor para a biorremediação e precipitação mineral induzida por microrganismos, com aplicações na descontaminação de águas subterrâneas e na redução da permeabilidade do aquífero, por exemplo.

Conforme revelado neste livro, a microbiologia tem um papel central na determinação dos padrões químicos das águas subterrâneas. Estudos de contaminação de águas subterrâneas e sua remediação que não incorporam conhecimentos microbiológicos tendem a negligenciar oportunidades para entender os importantes processos que governam as condições no local e, portanto, não reconhecem opções alternativas de tratamento. Portanto, nós recomendamos a inclusão de um membro com experiência em microbiologia em todas as equipes interessadas em investigar a contaminação e remediação de águas subterrâneas.

Agradecimentos

Agradecemos profundamente as revisões completas e úteis e as contribuições para este livro das seguintes pessoas:

- ❖ Francis Chapelle, United States Geological Survey, Estados Unidos;
- ❖ Bruce Rittman, Arizona State University, Estados Unidos;
- ❖ Doug Mackay, University of California Davis, Estados Unidos;
- ❖ Jim Barker, University of Waterloo, Canadá;
- ❖ Jim Spain, Georgia Institute of Technology, Estados Unidos;
- ❖ Dave McWhorter, Colorado State University, Estados Unidos;
- ❖ Everton de Oliveira, Hidroplan, Brasil;
- ❖ Hugh Whiteley, University of Guelph, Canadá.

Somos gratos pela supervisão deste livro por Amanda Sills, e pela edição de Juliana Apolonio, ambas do The Groundwater Project, Guelph, Ontário, Canadá. Agradecemos também Eileen Poeter (Colorado School of Mines, Golden, Colorado, EUA) pela edição técnica, formatação e produção deste livro.

Agradecimentos das Tradutoras

Agradecemos as seguintes agências brasileiras de fomento à pesquisa e desenvolvimento tecnológico:

- ❖ Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – processo nº 2021/08815-0;
- ❖ Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS);
- ❖ Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);
- ❖ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Agradecemos as universidades públicas e gratuitas, que possuem importante papel em nossa formação e de milhares de brasileiros. Somos especialmente gratas à Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) - Campus Erechim/RS, onde está localizado o Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos coordenado pela Profa. Dra. Helen Treichel.

Somos gratas pelo convite e apoio que recebemos durante todo o processo de tradução e formatação deste livro pela equipe do The Groundwater Project, Guelph, Ontário, Canadá.

1 Introdução

Como parte integrante do ciclo hidrológico, os sistemas de águas subterrâneas são influenciados por uma série de processos físicos, ambientais, hidráulicos e biogeoquímicos. Isso inclui mudanças sazonais no clima e precipitação, variações locais a regionais na porosidade e permeabilidade dos materiais subterrâneos, a formação e dissolução de minerais ao longo dos caminhos de fluxo das águas subterrâneas, o transporte de massa reativa e a biotransformação de substâncias químicas por microrganismos. Com o entendimento de que as águas subterrâneas é um recurso global de quantidade e qualidade altamente variáveis, o papel da microbiologia nos processos biogeoquímicos emergiu como um tópico essencial na hidrogeologia.

Por muitos anos pensou-se que o subsolo da Terra era praticamente desprovido de vida. Acreditava-se que a presença de organismos vivos estava limitada principalmente ao solo e aos ambientes da rizosfera (raiz das plantas). No entanto, descobertas nas últimas décadas revelaram uma vasta e diversificada biosfera microbiana que se estende vários quilômetros abaixo da superfície da Terra (Kallmeyer et al., 2012; Bar On et al., 2018; Magnabosco et al., 2018). Essas descobertas surgiram da crescente percepção de que os componentes considerados necessários para a vida acima do solo – luz solar, oxigênio, carbono orgânico abundante – são desnecessários para diversos microrganismos. Uma grande variedade de fontes de energia “não convencionais” é utilizada por diferentes microrganismos, incluindo uma enorme variedade de compostos inorgânicos e até mesmo compostos orgânicos que são tóxicos para outros organismos. Essa capacidade metabólica única torna os microrganismos agentes-chave no fluxo de energia e renovação da matéria condensada (por exemplo sólidos e líquidos cristalinos e amorfos, incluindo cristais líquidos, vidros, polímeros e géis) em processos de transporte reativos, conectando os sistemas de águas subterrâneas aos ambientes superficiais no ciclo hidrológico (Falkowski et al., 2008; Lin et al., 2012).

Na condição de habitat exclusivo para microrganismos, o subsolo é caracterizado pela ausência total de luz, temperaturas relativamente constantes e escassez de nutrientes, incluindo carbono orgânico. O metabolismo microbiano sob essas condições pouco convidativas pode ser muito mais lento do que na superfície da Terra, e está condicionado à duração e escala de tempo dos processos hidrogeológicos ao invés dos ciclos diários e sazonais governados pela luz solar. As condições relativamente estáveis do subsolo fazem com que as populações de microrganismos possam sobreviver e até mesmo prosperar por longos períodos e, portanto, exercer uma influência biogeoquímica significativa em seus arredores. Isso é especialmente importante em um contexto social porque a atividade microbiana afeta diretamente a composição química e a qualidade das águas subterrâneas, que são um recurso importante de água potável para grande parte da população mundial. A presença de microrganismos pode ser benéfica, podendo contribuir para a degradação

de substâncias tóxicas, ou prejudicial, como no caso da contaminação de aquíferos por microrganismos patogênicos provenientes do esgoto.

Este livro investiga os fundamentos da microbiologia das águas subterrâneas, iniciando pelas características dos microrganismos e sua grande predominância em ambientes subterrâneos da Terra. A estrutura de células microbianas, o crescimento, a ecologia e a bioenergética são introduzidos para construir alguma familiaridade com a ampla área de conhecimento que é a microbiologia. O conceito de sistemas de águas subterrâneas como habitat para microrganismos é discutido em termos de limitações físicas e da profunda distribuição da vida em ambientes subsuperficiais. Aspectos sobre equilíbrio de carbono inorgânico dissolvido, pH, processos de oxidação-redução (redox), reações de dissolução-precipitação mineral e o comportamento de células microbianas como sólidos geoquimicamente reativos serão considerados para uma análise da influência da atividade microbiana em processos químicos em águas subterrâneas. As seções finais do livro abordam o transporte e o movimento de microrganismos através de sistemas de águas subterrâneas e o potencial e bem conhecido papel dos microrganismos na hidrogeologia e remediação de contaminantes.

2 Microbiologia

A microbiologia é o estudo das formas de vida extremamente pequenas que não podem ser vistas sem uma lente de aumento ou microscópio (Heim et al., 2017). Esta definição operacional aplica-se a organismos unicelulares com tamanho inferior a cerca de 10^{-4} m (0,1 mm ou 100 μ m) (**Figura 1**). O mundo microscópico também inclui os vírus, que são as menores entidades biológicas da natureza (diâmetro de $\sim 10^{-7}$ m), contendo proteínas e material genético, seja ácido ribonucleico (RNA) ou ácido desoxirribonucleico (DNA). Os vírus são agentes infecciosos que dependem de processos metabólicos da célula hospedeira para se reproduzir, então há algum debate sobre os vírus serem realmente seres vivos.

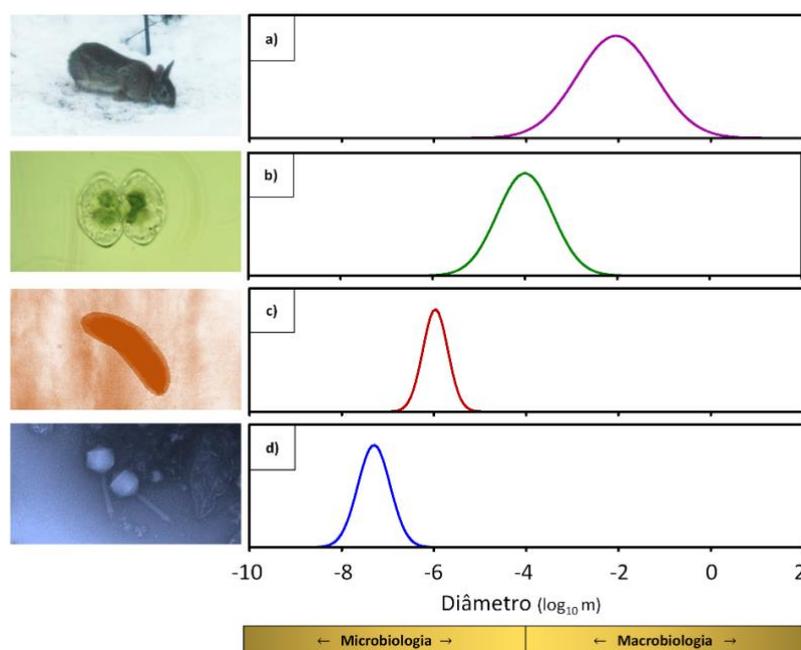


Figura 1 - Distribuições de tamanho de a) macroeucariotos, b) microeucariotos, c) procariontes e d) vírus.

Para além do tamanho, o escopo da microbiologia é bastante amplo. Ele abrange todos os três domínios da vida e seus diferentes microrganismos classificados como *Bacteria*, *Archaea* ou *Eukarya*. Todos os membros dos dois primeiros domínios são microrganismos procariontes que não possuem núcleos membranosos. O apelido “bactéria” é frequentemente adotado, como será neste livro, para se referir a procariontes em geral, porque *Bacteria* já foram classificadas como *Eubacteria*, e *Archaea* como *Archaeobacteria*. O terceiro domínio, *Eukarya*, são eucariotos que possuem núcleos ligados à membrana. Essa característica definidora é comum não apenas para plantas e animais, mas também a uma variedade de microrganismos incluindo fungos, protozoários e algas.

A classificação dos organismos vem sendo revolucionada por avanços extraordinários na biologia molecular que permitem o sequenciamento de cromossomos inteiros. Para os procariontes, esses métodos expuseram uma enorme diversidade genética

difícilmente reconhecida na hierarquia tradicional de categorias taxonômicas. Uma parte importante do problema é que a reprodução sexuada como característica definidora no nível taxonômico de uma espécie não se aplica aos procariontes, que geralmente se multiplicam por fissão binária assexuada. Outra parte intrigante desse dilema é que agora é possível identificar microrganismos na natureza, e que não podem ser isolados e cultivados em culturas puras de laboratório. Tais avanços sugerem que os microrganismos não isoláveis representam mais de 90 por cento da diversidade total da maioria das populações microbianas procariontes.

Em comparação com os eucariotos, os procariontes estão entre os organismos mais abundantes, difundidos e funcionalmente diversos da Terra. Existem tipicamente 10^5 a 10^6 células em um mililitro de água doce e 10^8 a 10^9 células em um grama de solo. Inventários globais indicam que cerca de 10^{30} células de bactérias habitam a Terra e incluem até 10^{12} (ou seja, um trilhão) de espécies diferentes, de acordo com alguns modelos ecológicos (Mora et al., 2011; Locey e Lennon, 2016; Louca et al., 2019). Isso corresponde a várias ordens de magnitude maior do que o número de 10^8 a 10^9 espécies previsto para eucariotos. Quando se trata de biomassa total, as estimativas globais são da ordem de 500 a 700 GtC (Giga toneladas métricas de Carbono), sendo $1 \text{ GtC} = 10^{12} \text{ kg}$ de carbono. Sugere-se que somente os procariontes representem de 15 a 48 por cento (81 a 327 GtC) da massa total de carbono na Terra, com até 90 por cento dessa biomassa habitando sistemas de águas subterrâneas terrestres e abaixo do fundo do mar (Kallmeyer et al., 2012; Bar-On et al., 2018; Magnabosco et al., 2018).

2.1 Estrutura da Célula Procarionte

Os microrganismos procariontes são entidades vivas com tamanho característico e estrutura celular distinta. Eles são envoltos por complexos envelopes multicamadas que servem como um limite protetor entre o interior e o exterior das células individuais (Konhauser, 2007; Kleanthous e Armitage, 2015). O envelope celular também fornece força física e forma a esses microrganismos, suporta a geração de energia para crescimento e divisão, permite a passagem seletiva de nutrientes de fora e de resíduos de dentro, facilita a motilidade e permite que as células interajam com o ambiente. O envelope celular de quase todas as bactérias consiste em duas camadas principais: uma membrana citoplasmática interna (também conhecida como membrana plasmática) e uma parede celular externa.

A membrana citoplasmática consiste em uma bicamada de lipídios, além de proteínas que contribuem para o transporte ativo de solutos, processos metabólicos e comunicação entre a célula e o ambiente. A maioria dos lipídios são fosfolipídios compostos de ácidos graxos, ligados a uma cadeia principal de fosfato de glicerol por ligações éster em *Bacteria* e ligações éter em *Archaea*. Pequenas moléculas polares podem se difundir através da bicamada lipídica, mas a passagem de íons e grandes moléculas polares é restrita e depende de proteínas de transporte específicas incorporadas na membrana. A viabilidade

das células procariontes depende criticamente da integridade física da membrana citoplasmática porque a falha estrutural resulta em morte celular.

Dois tipos básicos de paredes celulares de procariontes são distinguidos por sua resposta ao método coloração de Gram, que consiste em um teste de longa data usado para a classificação de bactérias por meio de microscopia óptica (**Figura 2**). As paredes celulares de bactérias Gram-positivas são constituídas por peptidoglicano (uma rede de mucopolissacarídeos reticulados em três dimensões por pontes peptídicas) e uma variedade de polímeros secundários (ácidos teicóicos ou teicurônicos e proteínas). Por outro lado, as paredes celulares de bactérias Gram-negativas possuem lipopolissacarídeos, fosfolipídios e proteínas arranjados em uma bicamada de membrana (a membrana externa). Comprimido entre a membrana externa e a membrana citoplasmática está uma fina camada de peptidoglicano. Algumas bactérias possuem paredes celulares que não possuem características nem Gram-positivas e nem Gram-negativas. As paredes celulares de *Archaea* não possuem o tipo de peptidoglicano encontrado em *Bacteria* e, em vez disso, possuem pseudopeptidoglicano, glicoproteínas ou proteínas isoladas. Além disso, as paredes celulares de procariontes são diferentes de plantas e fungos eucariontes, compostas de celulose e quitina, respectivamente.

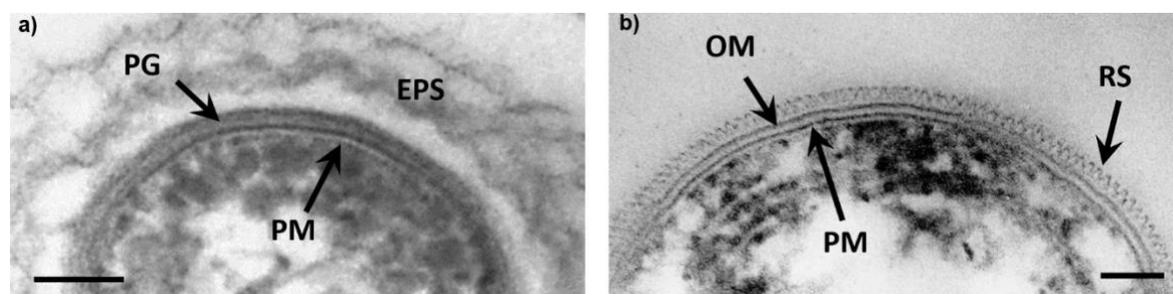


Figura 2 - Micrografias eletrônicas de transmissão de seção fina mostrando exemplos de células bacterianas a) Gram-positivas e b) Gram-negativas. Ambas as células são envolvidas por uma membrana plasmática (PM). Uma parede celular de peptidoglicano (PG) envolve a célula Gram-positiva, enquanto a célula Gram-negativa possui uma membrana externa (OM); entre a membrana externa e a membrana citoplasmática está uma fina camada de peptidoglicano. Substâncias poliméricas extracelulares (EPS), que são produzidas por muitos tipos de bactérias, são evidentes na célula Gram-positiva. Já a célula da bactéria Gram-negativa possui uma camada de superfície proteica regularmente estruturada (RS). Barras de escala = 80 nm.

A parede celular é responsável por fornecer resistência mecânica e forma às células procariontes. Se agentes como lisozimas ou antibióticos danificam a camada de peptidoglicano, ocorrerá a lise celular (quebra da membrana de uma célula) devido à pressão de turgescência do citoplasma. Uma boa analogia para a pressão de turgescência é a força que atua em um balão cheio de água, empurrando a água contra as paredes do balão. Quando se trata de forma celular, a maioria das bactérias possui uma das três morfologias básicas: cocos esféricos, bacilos em forma de bastonete ou variedades curvas que podem ser em forma de vírgula ou até espirais alongadas. Embora muitas bactérias existam como células solitárias, algumas permanecem ligadas entre si em forma de pares, tétrades cuboidais, cadeias ou aglomerados aleatórios, dependendo da geometria da divisão celular (**Figura 3**).

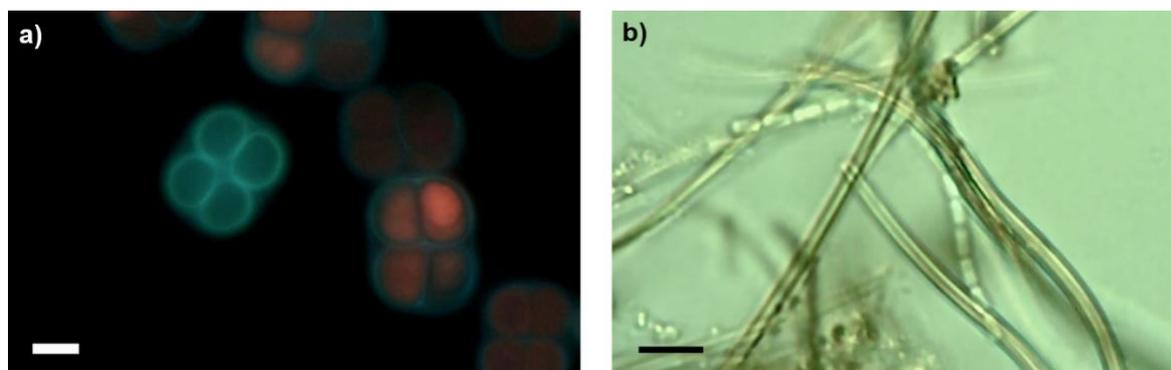


Figura 3 - a) Epifluorescência fotomicrográfica de células bacterianas, em formato de cocos, crescendo em forma de tétrede. b) Fotomicrografia de contraste de interferência diferencial de bactérias, em formato de bacilos, crescendo em forma de cadeia entre bainhas vazias de bactérias filamentosas. Barras de escala = 4,0 µm.

Substâncias poliméricas extracelulares (EPS, sigla em inglês), compostas principalmente de polissacarídeos ácidos (carboidratos com moléculas de açúcar ligadas) e proteínas, são frequentemente secretadas em grandes quantidades por procariontes para formar revestimentos hidratados externos ao redor das células (**Figura 2a**). Essas camadas de EPS possuem elevado grau de variabilidade estrutural, podendo consistir em camadas difusas de lodo ou cápsulas e revestimentos altamente organizados. Duas propriedades físico-químicas das EPS contribuem para suas funções: i) São revestimentos de superfície celular altamente hidratados, protegendo contra déficits de umidade e perda de água, e ii) a desprotonação (transferência de um próton em uma reação ácido-base) de grupos funcionais ácidos promove o desenvolvimento de uma carga superficial negativa líquida. Essa segunda propriedade faz com que as EPS funcionem como uma resina de troca iônica (sorvente) para a captura de nutrientes dissolvidos e proteção contra agentes químicos tóxicos. A camada de EPS possui funções adicionais importantes, incluindo auxiliar no reconhecimento celular, na fixação a superfícies e na formação de biofilmes.

Muitos microrganismos procariontes possuem arranjos proteicos de superfície regularmente estruturada (camadas RS ou S) na parte externa de suas paredes celulares (**Figura 2b**). Estes são conjuntos de subunidades de proteínas dispostas em formatos de empacotamento linear, quadrado, tetragonal ou hexagonal. Os poros estão localizados entre as subunidades de proteína que se estendem completamente através do arranjo, formando canais abertos com 2 a 3 nm de diâmetro para a parede celular subjacente. Isso permite que as camadas de RS funcionem como uma peneira molecular, permitindo a passagem de pequenas moléculas e excluindo grandes agentes deletérios, como enzimas degradadoras de parede, além de proteger as células de ataques de vírus bacteriófagos ou bactérias predadoras, como *Bdellovibrio*.

No domínio *Bacteria* existem os flagelos, que são filamentos de proteínas helicoidais com cerca de 20 nm de diâmetro e até 20 µm de comprimento, e são responsáveis pela motilidade natatória (**Figura 4a**). Eles podem estar localizados em uma ou ambas as extremidades de uma célula ou estarem dispostos de maneira uniforme (peritríquida) em

torno de uma célula. Os corpos basais dos flagelos estão ancorados na membrana citoplasmática e consistem em estruturas em anel que atuam como um motor elétrico em miniatura. A rotação flagelar é impulsionada pela energia obtida do transporte ativo de íons através da membrana citoplasmática. Quando os flagelos giram no sentido horário, as células nadam para frente, enquanto a rotação no sentido anti-horário produz um movimento de tombo.

Pili (também chamado de fímbrias) são apêndices de proteínas filamentosas finas com 2 a 10 nm de diâmetro e de até vários micrômetros de comprimento (**Figura 4b**). Eles se estendem para fora da membrana citoplasmática através da parede celular, mas não possuem estruturas de ancoragem complexas análogas aos corpos basais flagelares. Alguns pili desempenham uma função na facilitação da ligação de procariontes a superfícies, enquanto outros permitem a transferência de material genético entre células em um processo chamado conjugação. Outro grupo, conhecido como pili tipo IV, é capaz de se contrair e causar um movimento de espasmos que às vezes é realizado por células presas a superfícies. Evidências adicionais sugerem que a motilidade de deslizamento de algumas bactérias sobre superfícies sólidas é pelo menos parcialmente dependente da produção de pili tipo IV. Outras evidências sugerem que os flagelos de *Archaea* se assemelham aos pili tipo IV, em contraste com os de *Bacteria*.

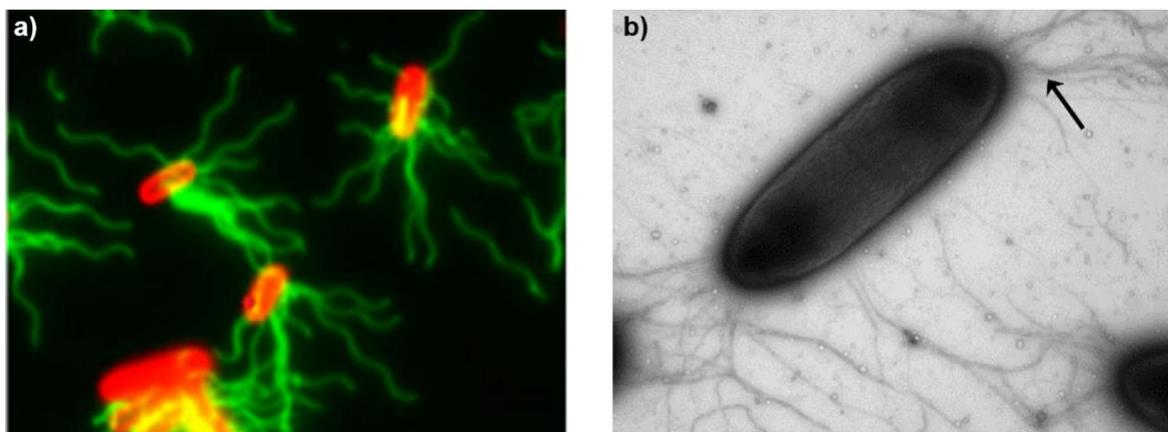


Figura 4 - a) Epifluorescência fotomicrográfica de células de *Bacillus subtilis* com flagelos peritríquios marcados com uma coloração verde fluorescente (reproduzida sob os termos da licença Creative Commons Attribution 3.0 de Wang et al., 2017). b) Coloração negativa de micrografia eletrônica de transmissão de pili tipo IV (seta) de *Pseudomonas aeruginosa* (reproduzida sob os termos da licença Creative Commons Attribution 3.0 de Chanyi e Koval, 2014). Barras de escala = 500 nm.

Para sobreviver a períodos sob estresse ambiental, alguns gêneros de bactérias (como *Bacillus* e *Clostridium*) formam estruturas dormentes, resistentes e não reprodutivas chamadas endósporos. Bactérias do domínio *Archaea* não são conhecidas por formar endósporos. As células individuais que passam por esporulação produzem um único endósporo internamente no citoplasma. Uma vez produzido, o endósporo contém um núcleo de DNA e ribossomos cercados por uma camada protetora com múltiplas camadas de peptidoglicano e proteínas. Os endósporos são inativos e não apresentam metabolismo

detectável. Eles podem sobreviver a estresses físicos e químicos extremos, como radiação ultravioleta, temperaturas extremas, desinfetantes e dessecação. Nesse estado inanimado, os endósporos podem permanecer viáveis por centenas a milhares de anos, e talvez até milhões de anos.

2.2 Crescimento Celular e o Ambiente

Embora os procariontes sejam abundantes e amplamente distribuídos na natureza, suas taxas de crescimento e funções metabólicas são sensíveis às condições do ambiente. Isso inclui parâmetros físicos e químicos, como temperatura, pressão, pH, potencial de Oxidação-Redução (também conhecido como potencial redox), força iônica e disponibilidade de nutrientes. Para alguns ambientes com condições extremas, como alta temperatura ou baixo pH, os procariontes são a única forma de vida capaz de sobreviver e crescer.

De todas as propriedades do ambiente, a temperatura exerce um efeito particularmente intenso no crescimento de procariontes. Isso ocorre porque as taxas de reação química e metabólica aumentam com a temperatura, seguindo a relação de Arrhenius mostrada na Equação 1.

$$k = A e^{-E_a/RT} \quad (1)$$

onde:

k = constante de velocidade da reação (1/T)

A = fator de frequência de colisões (1/T)

E_a = energia de ativação da reação (ML²)/(T² mol)

R = constante universal dos gases ideais (ML²)/(T² °K mol)

T = temperatura absoluta em graus Kelvin (°K)

Os procariontes geralmente crescem melhor próximo a uma temperatura ideal característica. A temperatura ideal de crescimento de procariontes psicrófilos (amantes do frio) é de cerca de 10°C, enquanto os termófilos (amantes do calor) preferem temperaturas acima de 40°C. Os procariontes mesófilos crescem bem em temperaturas médias entre 20 e 40°C. Nos extremos, os procariontes sobrevivem em temperaturas tão baixas quanto -20°C e tão altas quanto 120°C, desde que a água seja mantida em estado líquido por sais dissolvidos e alta pressão, respectivamente.

A exposição a altas pressões tende a impedir o crescimento de procariontes que estão acostumados à pressão atmosférica. Entretanto, existem microrganismos que vivem em ambientes oceânicos de alta pressão e subsuperficiais, classificados como barotolerantes (capazes de tolerar altas pressões) e até mesmo barofílicos (que precisam de altas pressões). Esses procariontes são capazes de estabilizar suas membranas citoplasmáticas por meio da alteração da composição de ácidos graxos dos fosfolípidios, e dessa forma compensar gradientes de pressão extremos entre o interior e o exterior das células.

Definido como o logaritmo negativo da concentração molar de prótons (íon hidrogênio, H^+), o pH é considerado uma variável mestre em química e biologia. O pH é definido na Equação 2.

$$\text{pH} = -\log[H^+] \quad (2)$$

Isso ocorre porque os prótons estão envolvidos em quase todos os tipos de reações químicas e metabólicas, incluindo ácido-base, complexação aquosa, adsorção superficial e reações redox. A grande maioria dos procariontes fica bastante confortável crescendo na faixa de pH neutra da maioria das águas naturais, de cerca de 5,7 para água meteórica intocada a cerca de 8,0 para água do mar. Os acidófilos, por sua vez, são adaptados para crescer em $\text{pH} < 3,0$, como por exemplo na drenagem ácida de minas e fontes termais ácidas. Na outra extremidade do espectro de pH estão os *alkaliphiles*, vivendo em $\text{pH} > 10$ em lagos salinos alcalinos e solos calcários alcalinos.

Os potenciais redox ambientais, medidos com um eletrodo de platina, são frequentemente discutidos em termos da presença (aeróbia, óxica) ou ausência (anaeróbia, anóxica) de oxigênio. Esta é uma simplificação do significado eletroquímico do potencial de Oxidação-Redução (Eh), que é definido em relação ao Eletrodo Padrão de Hidrogênio (EPH) para uma reação genérica de meia célula envolvendo oxidante (*ox*) e redutor conjugado (*red*) (Equação 3) pela equação de Nernst (Equação 4).



$$Eh = Eh^0 + \frac{2,303RT}{nF} \log \frac{[\text{ox}][H^+]^n}{[\text{red}]} \quad (4)$$

Com base na equação de Nernst, altos potenciais redox (Eh) são indicativos de condições oxidantes (maior abundância de espécies químicas oxidadas), enquanto valores mais baixos de Eh correspondem a condições redutoras (espécies químicas reduzidas dominam). Além disso, o valor do Eh tende a diminuir com o aumento do pH devido à dependência logarítmica da concentração de prótons. Quando as concentrações de *ox* e *red* são iguais em $\text{pH} = 0$ (também chamadas de condições padrão), então Eh é igual ao potencial padrão de meia célula Eh^0 .

O uso de eletrodos de platina para medir potenciais redox ambientais é historicamente baseado no trabalho de C.E. Zobell com sedimentos marinhos (Zobell, 1946). No entanto, os sedimentos e os sistemas de águas subterrâneas raramente estão em equilíbrio termodinâmico no que diz respeito às reações de oxidação-redução. Além disso, muitos oxidantes importantes (como oxigênio molecular) e redutores (como carbono orgânico) não reagem reversivelmente em eletrodos de platina. Por estas razões, as medições de Eh não demonstram ser quantitativamente significativas em ambientes aquosos, incluindo sistemas de águas subterrâneas (Lindberg e Runnells, 1984).

Quando se trata de crescimento de procariontes, a distinção entre condições aeróbias (presença de oxigênio molecular) *versus* anaeróbias (pouco oxigênio molecular ou

ausente) é mais importante do que se um ambiente específico está oxidando ou reduzindo. Muitos procariontes, e quase todos os eucariotos, requerem oxigênio para sobrevivência e crescimento. O limite inferior para esses aeróbios estritos é aproximadamente 1 por cento (referido como o Ponto de Pasteur) da concentração de oxigênio atmosférico ($pO_2 = 0,21$ atm). No entanto, um grande número de outros procariontes pode crescer na ausência de oxigênio como anaeróbios facultativos ou estritos (Stolper et al., 2010). Esta é a principal razão pela qual comunidades procariontes complexas prosperam em ambientes isolados do contato direto com a atmosfera, como em sedimentos e sistemas de águas subterrâneas.

A força iônica das águas naturais tem múltiplas implicações para o crescimento de procariontes, especialmente em termos de atividade aquosa e equilíbrio osmótico. Como medida da concentração de íons em solução, a força iônica molar I (mole/L) é calculada para n espécies iônicas conforme mostrado na Equação 5.

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i z_i^2 \quad (5)$$

onde:

c_i = concentração molar do íon i (mol/L²)

z_i = número de carga do íon i (adimensional)

Como nem sempre é possível (ou viável) obter uma análise química completa de todos os íons dissolvidos em solução, uma aproximação conveniente para a força iônica molar em função dos sólidos dissolvidos totais (SDT em mg/L) é dada pela Equação 6.

$$I = (2,5 \times 10^{-5}) SDT \quad (6)$$

Um aumento na força iônica faz com que a solução se desvie do comportamento ideal, tornando as interações iônicas e moleculares mais dependentes de atividades (concentrações efetivas adimensionais, a_i) e menos dependentes de concentrações absolutas. Considerando a concentração de espécies químicas i em solução em relação a uma concentração padrão c_p (tomada como unidade para uma fase pura) e o correspondente coeficiente de atividade γ_i (que diminui em função do aumento da força iônica), a atividade é calculada conforme a Equação 7.

$$a_i = \gamma_i \frac{c_i}{c_p} \quad (7)$$

Para os procariontes, maiores forças iônicas e menores atividades de soluto podem impedir o crescimento, por meio da diminuição das taxas de reações químicas e metabólicas (Small et al., 2001). Uma consequência muito mais séria é a diminuição da atividade aquosa que acompanha o aumento de SDT e da força iônica. Na verdade, poucos procariontes podem tolerar atividades aquosas muito abaixo de 0,98, o que corresponde aproximadamente à salinidade da água do mar. Em baixas atividades aquosas a água é retirada das células por osmose, interrompendo o crescimento celular normal. No entanto,

alguns procariontes (halófilos) conseguem crescer em salmoura (> 20 por cento de NaCl em peso) em níveis de atividade aquosa extremamente baixos (até cerca de 0,80).

O crescimento de procariontes geralmente implica em um aumento no número de células individuais (Allan e Waclaw, 2019). Sob condições ideais de laboratório com suprimento ilimitado de nutrientes, a taxa diferencial de aumento no número de células em relação ao tempo (t) depende da frequência de divisão celular, especificada pela constante da taxa de crescimento (μ), e o número de procariontes que estão crescendo (N), como mostrado pela Equação 8.

$$\frac{dN}{dt} = \mu N \quad (8)$$

A integração produz a equação de crescimento exponencial (Equação 9), que é o aumento progressivo no número de células procariontes ao longo do tempo (Figura 5).

$$N_t = N_0 e^{\mu t} \quad (9)$$

com um tempo de duplicação característico $T = \ln(2)/\mu = 0,693/\mu$ (Allan e Waclaw, 2019).

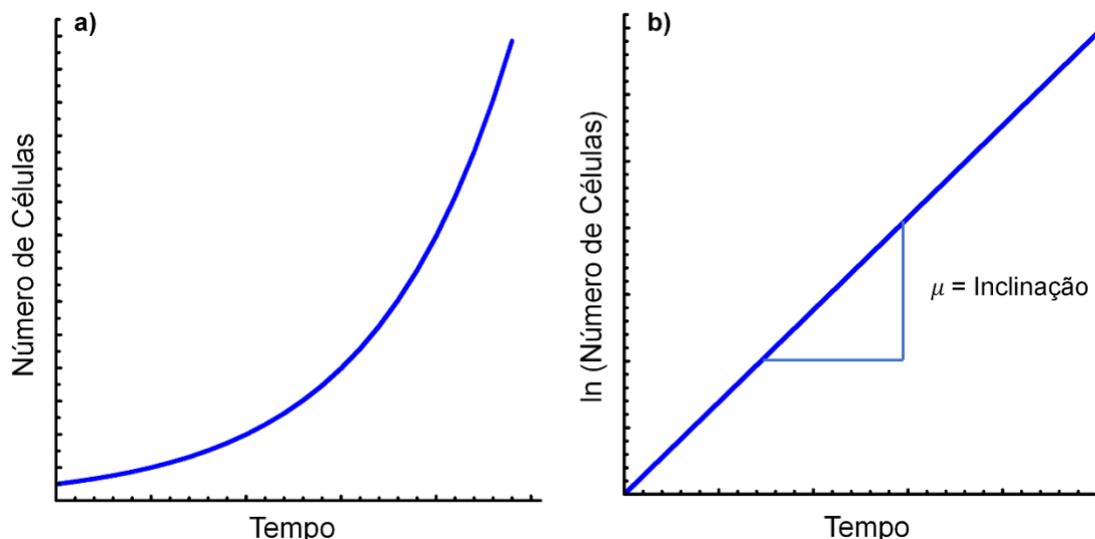


Figura 5 - a) Ilustração do crescimento microbiano e do aumento exponencial do número de células (eixo y) em função do tempo (eixo x). b) Gráfico do logaritmo natural (Ln) do número de células em função do tempo, no qual a Constante da Taxa de Crescimento (μ) é a inclinação da reta (linha azul).

Uma grande limitação do modelo de crescimento exponencial é que ele não leva em consideração a influência da disponibilidade de nutrientes na taxa de crescimento dos procariontes. Esta situação é descrita pela equação de Monod estendida conforme mostrado na Equação 10.

$$\mu = \frac{(\mu_{max} + m) S}{(K_s + S)} - m \quad (10)$$

onde:

μ_{max} = Constante da Taxa Máxima de Crescimento (1/T)

S = concentração de um único nutriente limitante (ou seja, considerando que outros nutrientes estão em excesso) (M/L³)

K_S = concentração de nutrientes correspondente à metade do μ_{max} (M/L³)

m = coeficiente de energia para manutenção dos processos metabólicos que mantêm as células vivas (1/T) (Figure 6)

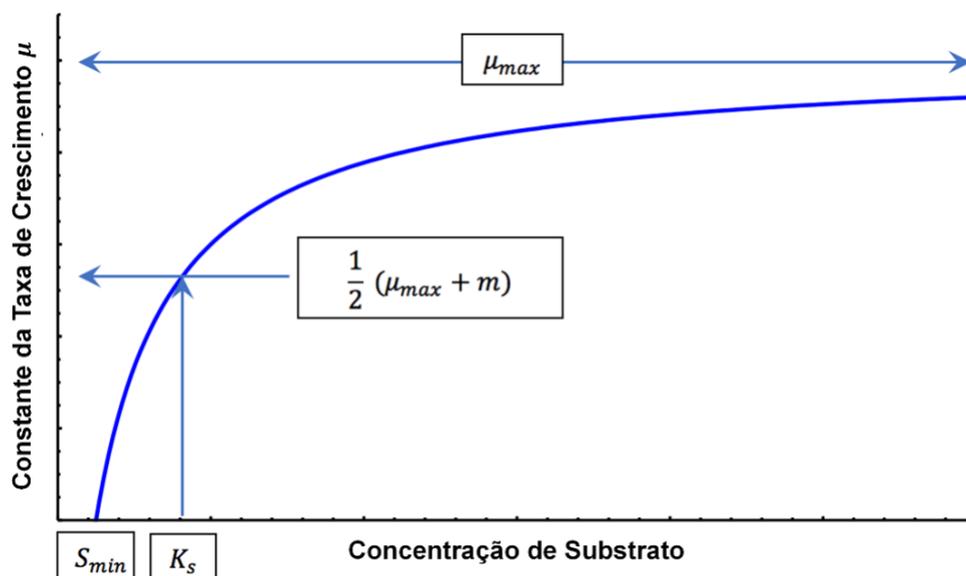


Figura 6 - Constante da Taxa de Crescimento μ em função da concentração de substrato, de acordo com a equação de Monod estendida. À medida que a concentração do substrato aumenta, o valor de μ aproxima-se assintoticamente da Constante da Taxa de Crescimento máxima μ_{max} . A concentração do substrato igual a K_S corresponde ao ponto em que μ é igual a metade de $(\mu_{max} + m)$. A concentração mínima de substrato necessária para manutenção da energia é equivalente a S_{min} .

A equação de Monod indica que um crescente fornecimento de nutrientes promove uma maior frequência de divisão celular e taxas de crescimento mais rápidas; no entanto, há um limite metabólico finito para quão rápido as células podem crescer (μ_{max}) sendo que além desse limite o crescimento se torna independente da disponibilidade de nutrientes. Há também uma concentração mínima de substrato (S_{min}) imposta pelos requisitos de energia de manutenção. Em S_{min} , o crescimento celular cessa ($\mu = 0$). O rearranjo da Equação 10 para a situação na qual as células permanecem vivas, mas param seu crescimento, resulta na Equação 11.

$$S_{min} = \frac{mK_S}{\mu_{max}} \quad (11)$$

Em ambientes naturais, particularmente sistemas de águas subterrâneas, as concentrações de nutrientes são normalmente muito mais próximas de S_{min} do que de K_S . Sob tais condições de quase inanição, os procariontes crescem lentamente (Hoehler e

Jorgensen, 2013; LaRowe e Amend, 2015, 2019). Os números de células são tipicamente baixos e tendem a permanecer constantes ao longo do tempo em um equilíbrio entre o crescimento celular e a perda de células devido à morte ou remoção física para fora do sistema. Nesta situação, a mudança no número de células ao longo do tempo assume a forma da Equação 12.

$$\frac{dN}{dt} = \mu N - k_d N = (\mu - k_d)N \quad (12)$$

Uma constante de decaimento k_d é adicionada para explicar a taxa na qual o número de células diminui (Allan e Waclaw, 2019). Se as taxas de crescimento e perda forem iguais, o número de células não mudará com o tempo. Esta situação é representativa de uma condição de estado estacionário. Quando a taxa de crescimento é maior que a taxa de perda, o número de células aumentará. Por outro lado, o número de células diminuirá se a taxa de crescimento for menor que a taxa na qual as células são perdidas.

Embora a relação de Monod leve em consideração o *fornecimento* de nutrientes, ela não aborda a questão da *qualidade* dos nutrientes. Os nutrientes essenciais necessários para o crescimento celular incluem fontes de carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, cálcio, oxigênio e ferro. Os nutrientes traço incluem elementos como manganês, cobre, cobalto, zinco e molibdênio. Todos esses nutrientes podem ser obtidos a partir de uma vasta variedade de matéria orgânica e inorgânica para atender necessidades específicas de crescimento de diferentes microrganismos procariontes. Entretanto, a disponibilidade por si só não torna um nutriente melhor do que outro. Outros fatores entram em jogo, incluindo tamanho e estrutura molecular, solubilidade e carga iônica. Por exemplo, o valor nutricional de grandes materiais insolúveis é geralmente menor do que o de moléculas solúveis menores. Da mesma forma, estruturas de ramificação e anel na espinha dorsal de carbono de compostos orgânicos complexos são restritivas ao processamento metabólico. Quando se trata de assimilar nutrientes iônicos, as células devem contar com transporte ativo porque os íons não conseguem se difundir livremente através da membrana citoplasmática.

As células procariontes são principalmente compostas de água (80 por cento), portanto sua densidade aparente é quase igual à densidade da água. Isso torna os procariontes bastante flutuantes, o que permite o crescimento livre e não confinado em suspensão aquosa (**Figura 7a**). Também torna os procariontes suscetíveis ao transporte advectivo e à dispersão como partículas suspensas na água em movimento. Alguns procariontes são bem adaptados ao crescimento planctônico e podem sobreviver a longos períodos de inanição sob condições diluídas e pobres de nutrientes que prevalecem na maioria das águas naturais; no entanto, a realidade é que a maioria dos procariontes cresce em biofilmes aderidos a superfícies (McDougald et al., 2012; Marshall, 2013). Essas comunidades aderentes de procariontes consistem principalmente de EPS e outros biopolímeros que imobilizam células vivas em superfícies (**Figura 7b**). Os procariontes que

crecem em biofilmes se beneficiam diretamente das forças interfaciais sólido-líquido, como tensão superficial e adsorção de íons, que contribuem para o acúmulo e aumento da acessibilidade metabólica de nutrientes.

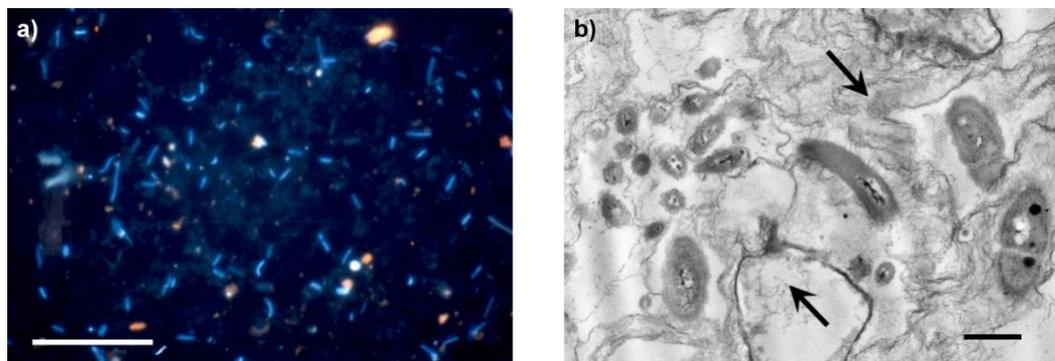


Figura 7 - a) Epifluorescência fotomicrográfica de bactérias planctônicas presentes em amostra de água doce. Barra de escala = 20 µm. b) Micrografia eletrônica de transmissão de seção fina mostrando micro colônias de bactérias de biofilme epilítico (indicadas por setas), cercadas por grandes quantidades de substâncias poliméricas extracelulares fibrosas. Barra de escala = 1,0 µm.

Como regra geral, a abundância numérica de organismos vivos aumenta com a diminuição do tamanho. As menores e mais abundantes entidades biológicas na natureza são os vírus, seguidos pelos procariontes e depois pelos eucariontes. Em média, o número de organismos suspensos em uma amostra típica de água superficial ou subterrânea rasa se aproxima de 10^7 por mL para vírus, 10^5 por mL para procariontes e 10^2 por mL para eucariontes unicelulares (Kyle et al., 2008). Os números totais são ainda maiores em amostras de solos e sedimentos, que podem conter até 10^{10} vírus, 10^9 procariontes e 10^5 eucariontes por grama. Isso faz com que a grande maioria dos microrganismos em ambientes subsuperficiais cresçam em biofilmes aderidos a superfícies minerais (McDougald et al., 2012; Marshall, 2013).

2.3 Transporte de Massa e Considerações Bioenergéticas

O reconhecimento da abundância e enorme diversidade genética dos procariontes é equilibrado por limitações inevitáveis impostas à vida pela física e pela química. Os principais processos físicos que afetam negativamente a vida dos procariontes estão relacionados à dinâmica de fluidos e ao transporte de massa de solutos, incluindo nutrientes essenciais e produtos metabólicos. Ao mesmo tempo, não há como nenhum organismo vivo escapar das leis da termodinâmica química que governa a espontaneidade e o progresso dos processos metabólicos, incluindo a produção de energia catabólica e as reações biossintéticas anabólicas.

Devido ao seu pequeno tamanho, as células de procariontes existem sob condições nas quais as forças viscosas dominam as forças inerciais. A razão adimensional de forças inerciais para viscosas corresponde ao número de Reynold (Re), que é usado em dinâmica de fluidos para prever diferentes padrões de fluxo em função da densidade do fluido (ρ),

velocidade de fluxo relativa (u), escala de comprimento linear característico (L) e viscosidade dinâmica (μ), conforme mostrado na Equação 13.

$$R_e = \frac{\rho u L}{\mu} \quad (13)$$

Quando o número de Reynold é baixo ($R_e \ll 1$), característico de procariontes na faixa de tamanho de 10^{-6} m, a água flui em uma direção paralela às superfícies das células de forma laminar suave. Isso isola células procariontes dentro de uma camada limite viscosa de água, mesmo que o fluxo de água subterrânea esteja a altas velocidades (> 100 m/d) e sob turbulência que ocorre em alguns aquíferos cársticos (Shoemaker et al., 2008).

Os solutos dissolvidos são transportados por advecção na mesma velocidade relativa e na mesma direção que a água na camada limite de fluxo laminar ao redor das células. Como o fluxo de água é paralelo à superfície das células, o acesso direto aos nutrientes essenciais e a dispersão de produtos metabólicos residuais por meio de transporte de massa advectiva não é possível. Para superar essa limitação, os procariontes contam com a difusão molecular para mediar o transporte de massa lateral de solutos em direção e para longe das células.

De acordo com a primeira lei de Fick, o fluxo difusivo (J_x ; moles/m²·s) em uma direção perpendicular à superfície de uma célula depende do coeficiente de difusão (D ; m²/s) e do gradiente de concentração de um soluto em relação a distância da superfície da célula (dC/dx ; moles/m⁴), conforme indicado pela Equação 14.

$$J_x = -D \cdot \frac{dC}{dx} \quad (14)$$

Essa relação implica que gradientes de concentração mais altos (mais acentuados) aumentarão as taxas de transferência de massa por difusão para microrganismos procariontes.

As taxas metabólicas de absorção de nutrientes e excreção de resíduos desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e manutenção de gradientes de concentração ao redor das células. Especificamente, a absorção de nutrientes tenderá a diminuir as concentrações de soluto da superfície celular em relação às concentrações principais circundantes, estabelecendo assim um gradiente de concentração em direção à célula. A excreção de resíduos terá o efeito oposto nas concentrações de soluto, resultando em um gradiente de concentração que se estende para longe da célula. Por outro lado, maiores concentrações de solutos de nutrientes principais ou menores concentrações de resíduos em relação às concentrações da superfície celular servirão para aumentar os gradientes de concentração e a transferência de massa por difusão em benefício das células microbianas. Por outro lado, uma diminuição nas concentrações principais de nutrientes ou um aumento nas concentrações de resíduos terão o efeito oposto nos gradientes de

concentração, resultando em um corte na transferência de massa por difusão e possível desnutrição metabólica.

A adoção de um tamanho de célula maior com uma área superficial maior parece ser uma estratégia útil para mitigar as limitações de difusão. No entanto, a distância de difusão para o meio de células bacterianas em formato coco esférico (o raio da célula) é maior do que para células em formato bastonete de mesmo volume (**Figura 8**). Além disso, o tempo de difusão (t) varia proporcionalmente à distância de difusão (l) e inversamente proporcional ao coeficiente de difusão molecular (D), como mostrado pela Equação 15.

$$t = \frac{l^2}{2D} \quad (15)$$

Em relação a uma célula em formato coco e com um raio inicial de 1,0 μm , uma outra célula de mesmo formato, mas com raio 1,3 μm e volume duas vezes maior, terá uma distância de difusão aumentada em 30 por cento e um tempo de difusão do soluto aumentado em quase 70 por cento. Por outro lado, as distâncias e os tempos de difusão permanecem inalterados para células em formato bastonete de raio fixo, que dobra de volume por alongamento (comprimento) em vez de se expandir para fora.

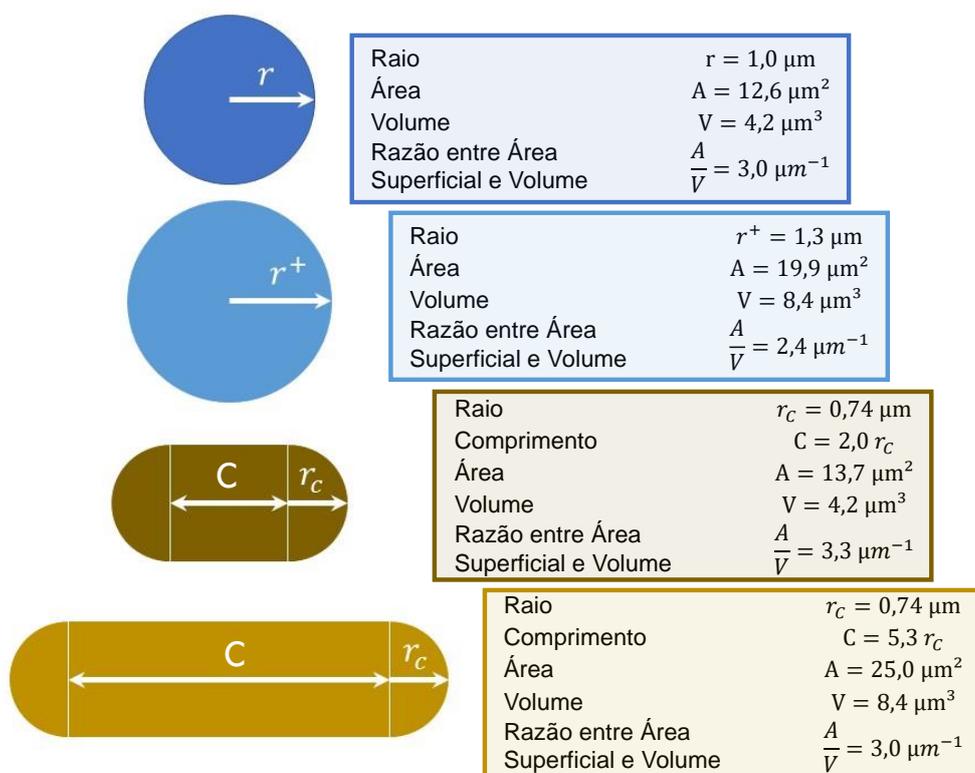


Figura 8 - Relações entre as escalas de tamanho característico de células bacterianas em formatos cocos (raio) e bastonetes (comprimento e raio), com suas correspondentes áreas de superfície (A), volumes (V) e razões entre área superficial e volume (A/V).

A questão da termodinâmica se resume a como diferentes tipos de microrganismos geram e conservam a energia necessária para o crescimento e reprodução por divisão celular (Bethke et al., 2011; Bird et al., 2011). Todas as formas de vida, incluindo os microrganismos, dependem estritamente de reações de oxidação para geração de energia. Nessas reações, uma substância química reduzida sofre oxidação com a transferência de elétrons para outra substância química mais oxidada. Tais reações são espontâneas e exergônicas, correspondendo a uma energia de reação de Gibbs negativa (ΔG_r). A quantidade de energia que é liberada é diretamente proporcional à diferença no potencial redox (ΔEh) entre reações de meia célula do doador de elétrons reduzido e receptor de elétrons oxidado, como mostrado na Equação 16.

$$\Delta G_r = -nF\Delta Eh = -nF(Eh_{\text{receptor de elétrons}} - Eh_{\text{doador de elétrons}}) \quad (16)$$

onde:

n = número de elétrons transferidos na reação

F = constante de Faraday (C/mol)

Os valores de Eh do receptor e doador de elétrons são dados pela equação de Nernst (Equação 4).

Os dois principais tipos de vias geradoras de energia são a respiração e a fermentação. A respiração envolve a transferência de elétrons através de uma cadeia de intermediários metabólicos, acabando em um receptor terminal de elétrons. Em várias

etapas da cadeia de transporte de elétrons a energia liberada é capturada na forma bioquímica de adenosina trifosfato (ATP). Na fermentação, a ATP é formada quando um composto químico em estado de oxidação misto é dividido em dois, sendo uma parte oxidada e a outra reduzida. Comparado com a respiração, o rendimento energético da fermentação tende a ser menor. Por esta razão, a respiração é a via preferencial de geração de energia da maioria dos organismos na Terra.

A respiração aeróbia usando oxigênio molecular como acceptor terminal de elétrons produz a maior quantidade de energia. Isso se deve ao alto potencial redox padrão ($Eh = 1,23$ V) da reação de meia célula de oxigênio-água em relação às demais substâncias químicas que podem servir como doadoras de elétrons (**Tabela 1**). Mas o que realmente diferencia os microrganismos (especialmente os procariontes) de outras formas de vida é a vasta gama de outros aceptores terminais de elétrons que podem ser usados quando o oxigênio não está disponível. Isso é chamado de respiração anaeróbia.

Tabela 1 - Potenciais redox padrão de algumas reações de meia célula aceptoras e doadoras de elétrons.

Acceptores de Elétrons	Eh^0 (V)
$1/4 O_2 + H^+ + e^- = 1/2 H_2O$	1,23
$1/5 NO_3^- + 6/5 H^+ + e^- = 1/10 N_2 + 3/5 H_2O$	1,24
$1/2 MnO_2 + 2H^+ + e^- = 1/2 Mn^{2+} + H_2O$	1,22
$Fe(OH)_3 + 3H^+ + e^- = Fe^{2+} + 3H_2O$	1,07
$1/8 SO_4^{2-} + 9/8 H^+ + e^- = 1/8 HS^- + 1/2 H_2O$	0,25
$1/8 CO_2 + H^+ + e^- = 1/8 CH_4 + 1/4 H_2O$ (metano)	0,17
Electron Donors	Eh^0 (V)
$H^+ + e^- = 1/2 H_2$	0
$1/6 CO_2 + H^+ + e^- = 1/6 CH_3OH + 1/6 H_2O$ (metanol)	0,03
$1/4 CO_2 + H^+ + e^- = 1/4 CH_2O + 1/4 H_2O$ (formaldeído)	-0,07
$1/2 CO_2 + H^+ + e^- = 1/2 HCOOH$ (ácido fórmico)	-0,20
$CO_2 + H^+ + e^- = 1/2 C_2H_2O_4$ (ácido oxálico)	-0,48
$1/6 CO_2 + H^+ + e^- = 1/12 C_2H_4 + 1/3 H_2O$ (etileno)	0,07
$1/6 CO_2 + H^+ + e^- = 1/12 C_2H_5OH + 1/4 H_2O$ (etanol)	0,09
$1/8 CO_2 + H^+ + e^- = 1/8 CH_3COOH + 1/4 H_2O$ (ácido acético)	0,12
$1/4 CO_2 + H^+ + e^- = 1/24 C_6H_{12}O_6 + 1/4 H_2O$ (glicose)	-0,01

A maneira convencional de explicar a respiração anaeróbia usa a imagem icônica de degraus simbolizando a escada de energia, onde cada intervalo descendente corresponde a uma reação de meia célula aceptora terminal de elétrons com menor potencial redox padrão. Isso fornece a sequência frequentemente citada – e que vale a pena memorizar – de aceptores terminais de elétrons para respiração anaeróbia: nitrato, seguido por Mn(IV), Fe(III), sulfato e, finalmente, dióxido de carbono. Os redutores conjugados correspondentes dos aceptores terminais de elétrons são nitrogênio, Fe(II) e Mn(II), sulfeto e metano/ácido acético.

Ao mesmo tempo, a imagem de uma escada de potencial redox para respiração anaeróbia não faz jus ao que acontece na natureza de várias maneiras. Primeiramente a escada é mais como um escorregador, porque ΔG_r não depende apenas de Eh^0 (Figura 9); em vez disso, Eh é uma variável crítica determinada pelas concentrações reais de oxidantes e redutores conjugados com base na equação de Nernst (Equação 4). Em segundo lugar, a lista convencional de aceptores terminais de elétrons não reflete totalmente o vasto conjunto de potenciais oxidantes disponíveis para a respiração anaeróbia em ambientes naturais. Estes incluem várias substâncias inorgânicas e orgânicas, das quais algumas são até tóxicas para outros organismos. Como terceiro ponto, o uso de energia pode ocorrer simultaneamente em diferentes “degraus” da escada de potencial redox em um determinado ambiente por diferentes grupos de microrganismos ou por uma única comunidade microbiana transitando entre fontes de energia.

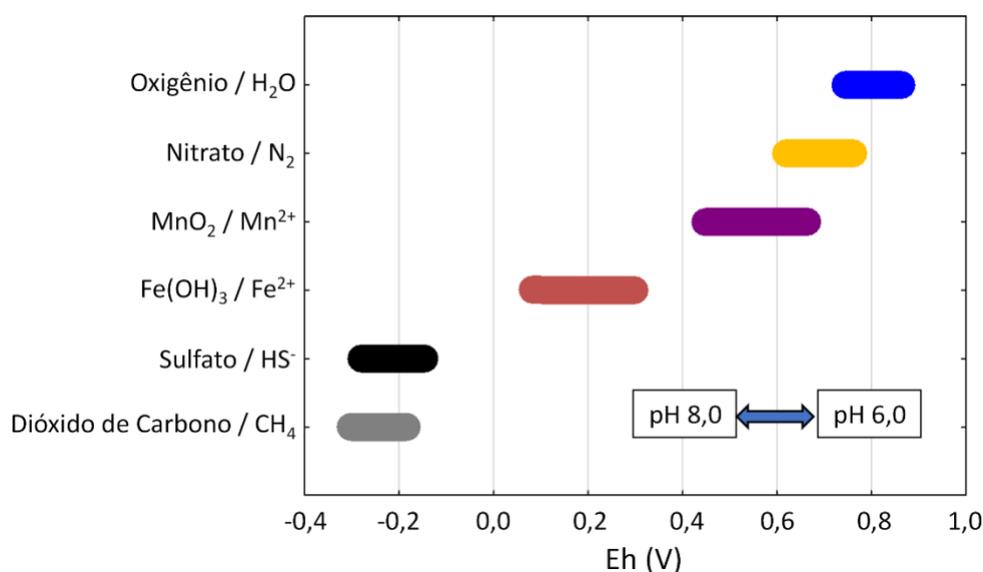


Figura 9 - Faixa de Potencial de Oxidação-Redução (Eh) para usuais aceptores de elétrons de pH 6,0 (valores superiores) a pH 8,0 (valores inferiores). Os valores de Eh foram calculados usando a equação de Nernst (Equação 4) e baseando-se nas reações de meia célula listadas na Tabela 1. Uma concentração de 10^{-5} M foi assumida para todas as espécies químicas dissolvidas, exceto para H^+ , e atividade unitária para fases minerais sólidas e água com pCO_2 atmosférico = $10^{-3,50}$, $pO_2 = 10^{-0,68}$ e $pN_2 = 10^{-0,11}$ atm.

2.4 Grupos Metabólicos

A classificação de procariontes em termos de capacidade metabólica e fisiologia é amplamente utilizada como padrão para descrever os papéis dos microrganismos e suas funções nos ecossistemas (Amend e Teske, 2005; Anderson et al., 2006; Shirokova e Ferris, 2013). Os grupos definidos desta forma podem incluir microrganismos não relacionados por critérios filogenéticos utilizados na taxonomia. Por exemplo, a respiração anaeróbia por redução de sulfato é realizada por microrganismos procarióticos de linhas filogenéticas variadas, incluindo diferentes filós e gêneros no domínio *Bacteria*, bem como algumas espécies de *Archaea*. Apesar das suas grandes diferenças filogenéticas, os procariontes redutores de sulfato representam um grupo metabólico (fenotípico) distinto que desempenha um papel ecológico importante no ciclo biogeoquímico do enxofre e do carbono. Para além da categorização ecofisiológica baseada em aceptores terminais de elétrons, são utilizados dois critérios adicionais para definir grupos metabólicos procariontes: a fonte de energia utilizada para alimentar o metabolismo celular e o processo utilizado para metabolizar carbono para o crescimento celular.

Os microrganismos procariontes captam energia de reações impulsionadas pela luz (fototróficos) ou pela oxidação de compostos químicos reduzidos (quimiotróficos), como mostrado na **Figura 10**. Enquanto a disponibilidade de energia luminosa restringe os fototróficos a ambientes superficiais, os quimiotróficos prosperam mesmo na escuridão completa encontrada em habitats oceânicos profundos e subterrâneos. Entre os quimiotróficos, os que oxidam substâncias orgânicas reduzidas são conhecidos como organotróficos, enquanto os litotróficos oxidam substâncias inorgânicas como o amônio (NH_4^+), sulfeto (S^{2-}), ou óxido ferroso (Fe^{2+}). Quando se trata da fonte de carbono, os autotróficos dependem da redução do dióxido de carbono para produzir material orgânico celular. Em contraste, os heterotróficos (frequentemente considerados como sinônimo de organotróficos) utilizam moléculas orgânicas pré-existentes para promover o crescimento e divisão celular. Os fotoheterotróficos dependem da luz para gerar energia e matéria orgânica. Estes vários termos dão definições ecofisiológicas práticas para os diferentes grupos metabólicos de microrganismos procariontes encontrados em sistemas naturais.

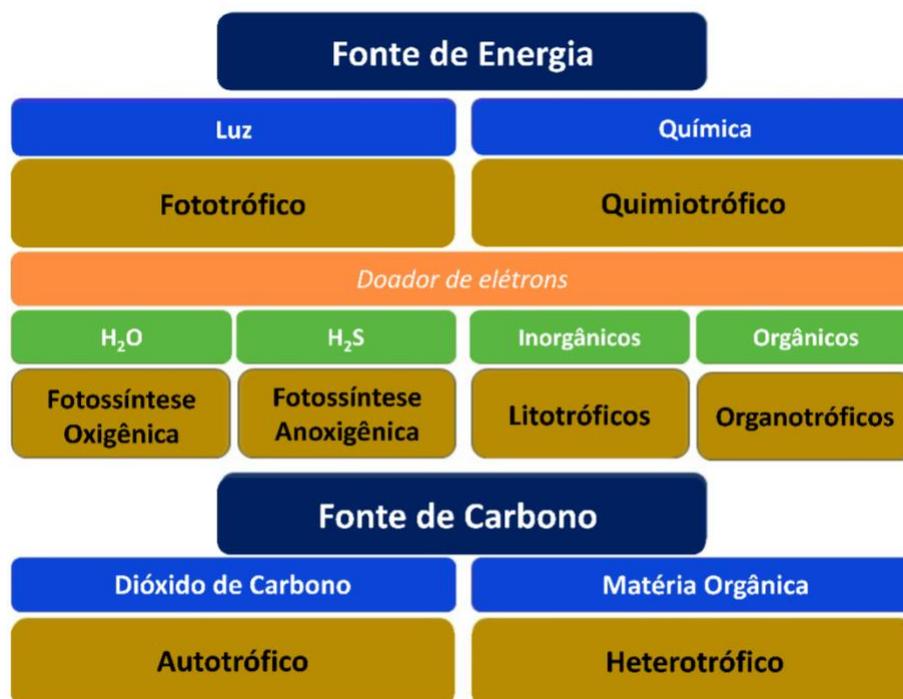


Figura 10 - Grupos funcionais de microrganismos baseados na fonte de energia e carbono.

3 Águas Subterrâneas como Habitats para Vida Microbiana

Os tipos de lugares em que os organismos vivos crescem e se multiplicam são frequentemente descritos como habitats. Cada habitat é caracterizado por um conjunto de características físicas e químicas que são essenciais para a sustentação da vida. No contexto da hidrogeologia, um dos parâmetros físicos mais críticos para descrever diferentes habitats é a magnitude da escala de comprimento. Nas águas subterrâneas as escalas de comprimento se estendem por grandes distâncias de 10^3 m (1 km) até distâncias tão pequenas quanto 10^{-6} m (1 μ m), a depender da definição do tamanho do habitat. A escala de comprimento é crítica porque define outras propriedades físicas importantes para que seja possível habitar o ambiente, como áreas de superfície e volumes relativos de sólidos, água, ar e outros fluidos. Esses fatores determinam não apenas onde é possível a vida se refugiar, mas também influenciam o movimento da água (associado com a lei de Darcy por meio da condutividade hidráulica), a química das águas subterrâneas e os processos de transporte de massa reativos (associado as relações de advecção, dispersão e reação).

Em escala global, é difícil mensurar a grande quantidade de água que existe no subsolo, com estimativas de volume atingindo dezenas de milhões de quilômetros cúbicos (Gleeson et al., 2015). Isso é quase tanta água quanto em algumas bacias oceânicas. Entretanto, notavelmente toda essa água subterrânea é praticamente invisível à observação macroscópica ($> 10^{-4}$ m) porque está presente em espaços intersticiais microscópicos ($< 10^{-4}$ m) entre grãos de minerais em sedimentos, bem como ao longo de juntas e fraturas no leito rochoso. Como consequência, considerando a razão entre a área da superfície mineral e o volume de água, os ambientes subterrâneos excedem em muito a dos ambientes de superfície. No entanto, quando se trata de espaço real, a maioria dos ambientes subterrâneos são acessíveis apenas a microrganismos.

Para se ter ideia das limitações do espaço físico em ambientes subsuperficiais, a Figura 11 compara as faixas de tamanhos de diferentes formas de vida com diâmetros de poros em argila e areias não consolidadas, juntamente com valores correspondentes para xisto, arenito, dolomita e largura de abertura em rochas fraturadas. Além de algumas fraturas e juntas mais amplas que ocorrem em rochas, os macroeucariotos são grandes demais para viver em ambientes de águas subterrâneas. Mesmo o espaço para microeucariotos é limitado, pois sua faixa de tamanho é semelhante aos diâmetros dos poros das areias, o que significa que há pouco espaço para crescer e se multiplicar. Por outro lado, o tamanho menor dos procariontes permite que eles sobrevivam na maioria das areias não consolidadas porosas. Embora seja possível o crescimento planctônico e o movimento entre os poros, a maioria das células cresce em biofilmes ligados a grãos minerais ou superfícies de rochas. Em geral, os microrganismos aderidos dominam os sistemas de águas subterrâneas em termos de biomassa e atividade; no entanto, há um

equilíbrio dinâmico entre os processos de fixação e desprendimento à medida que as bactérias transitam entre os modos de crescimento planctônico e aderido em resposta a mudanças nas condições ambientais, como disponibilidade de nutrientes ou variações no potencial redox. Nos menores poros, como em argilas e em rochas sedimentares consolidadas como o xisto, o espaço começa a se tornar um fator limitante não apenas para células de procariontes, mas também para partículas virais (Rebata-Landa e Santamarina, 2006).

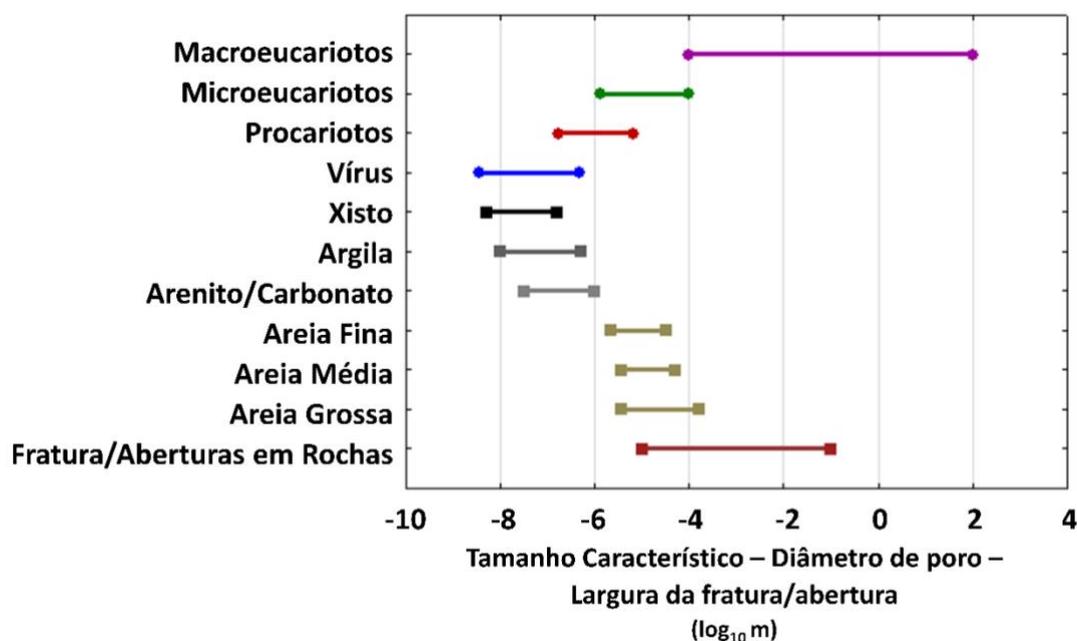


Figura 11 - Comparação dos diâmetros característicos dos poros nos sedimentos e larguras de fratura/abertura das juntas nas rochas comparado ao tamanho de vírus, procariontes, microeucaariotos e macroeucaariotos. A linha azul representa o limite de tamanho inferior de todos os microrganismos, enquanto a linha bordô define o limite de tamanho superior dos ambientes.

O declínio constante das concentrações de células de microrganismos com o aumento da profundidade no subsolo é bastante relatado. Em sistemas de águas subterrâneas próximas à superfície, a profundidades inferiores a 100 m, o número médio de células é 10^7 /g em núcleos e cerca de 10^5 /mL em amostras de águas subterrâneas. Estas concentrações celulares diminuem para os respectivos valores médios de cerca de 10^4 /g e 10^3 /mL em profundidades superiores a 1000 m. O aumento da força iônica com a profundidade é sugerido como um fator particularmente importante, contribuindo para a diminuição do número de células no subsolo profundo. Dentro da zona do solo, a diminuição das células de microrganismos em profundidade de 1 a 2 m correlaciona-se tipicamente com a diminuição da concentração de carbono orgânico. Isto porque os heterótrofos aeróbios degradam e consomem matéria orgânica rica em celulose derivada de plantas. Em profundidades maiores, a relação entre as concentrações de células e o carbono orgânico diminui, reforçando o papel de microrganismos litoautotróficos no ciclo de carbono subsuperficial profundo.

Outro parâmetro físico importante que define habitats em sistemas de águas subterrâneas é a temperatura (Amend e Teske, 2005; Taylor e Stefan, 2009; Bonte et al., 2013a,b). A razão pela qual a temperatura é tão crítica é que ela controla quando e onde a água existe em estado líquido, o que é um requisito absoluto de vida. Para água pura, são necessárias temperaturas de 0 a 100°C a uma pressão padrão de 1 atm. As taxas de processos metabólicos e reações químicas, bem como a estabilidade das biomoléculas, dependem da temperatura. A densidade e viscosidade da água também são sensíveis à temperatura, assim como o transporte de metabólitos e outras substâncias químicas por difusão molecular.

Em contraste com as alterações sazonais do clima acima do solo, a elevada capacidade térmica específica da água, as propriedades isolantes dos materiais geológicos e a falta de irradiação solar mantêm as águas subterrâneas pouco profundas próximo à temperatura anual média do ar (Menberg et al., 2014; Benz et al., 2017). Com exceção das regiões polares, a maioria dos sistemas de águas subterrâneas pouco profundas (não mais de 60 m de profundidade) em todo o mundo estão dentro da faixa de temperatura que os microrganismos estão adaptados (**Figura 12**).

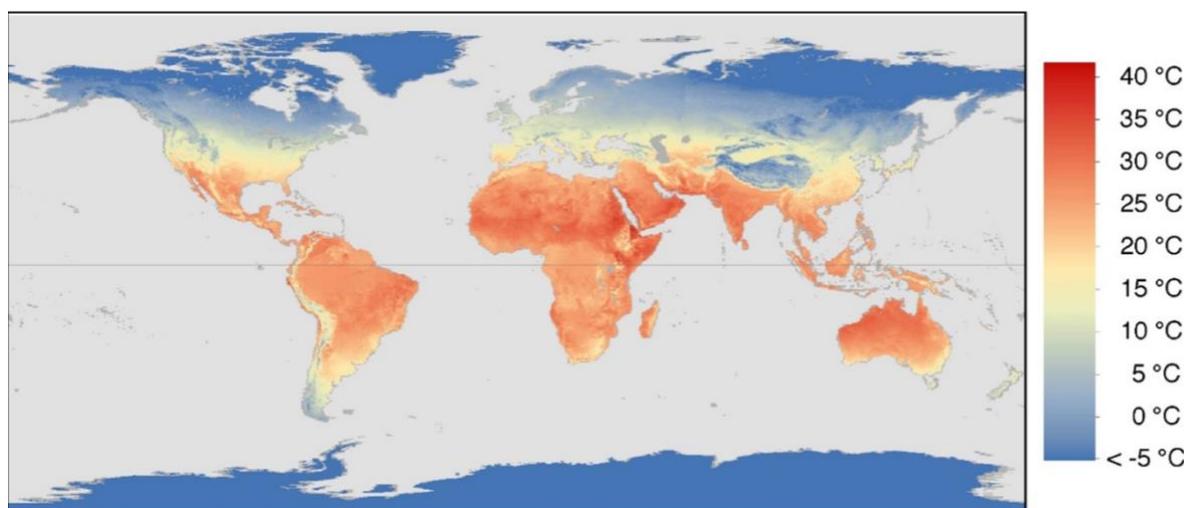


Figura 12 - Temperatura global estimada para ambientes pouco profundos de águas subterrâneas (< 60 m). Reproduzido de acordo com os termos de Creative Commons Attribution 3.0 licença de Benz et al., 2017.

A temperatura tende a aumentar com a profundidade subterrânea devido a múltiplas fontes de calor no interior da Terra, tais como o decaimento radioativo e o calor latente da cristalização do núcleo. Embora variável, especialmente em regiões vulcânicas, o gradiente geotérmico típico na maioria das áreas do mundo é de cerca de 25 a 30°C/km. Isto significa que as temperaturas se aproximarão dos 100°C a profundidades de 3 a 4 km, o que dá uma ideia aproximada da profundidade a que a vida microbiana pode existir nos sistemas de águas subterrâneas (Colwell e D'Hondt, 2013).

Inúmeras propriedades químicas são relevantes para a caracterização de habitats microbianos em sistemas de águas subterrâneas, incluindo o pH (Equação 2), potencial

redox (Eh) (Equação 4) e força iônica (Equação 5). Além disso, concentrações de diferentes materiais sólidos, gases e solutos dissolvidos ajudam a definir as condições químicas de um habitat, particularmente em termos de disponibilidade de nutrientes e fornecimento de energia. Estas concentrações são frequentemente relatadas em diferentes unidades, como percentagens, partes por milhão e molaridade. Da mesma forma, para gases, partes por milhão e pressão parcial são frequentemente utilizadas de forma intermutável. Por conseguinte, é importante poder converter de uma unidade para outra em qualquer investigação quantitativa destes parâmetros em sistemas de águas subterrâneas.

4 Influência dos Microrganismos na Química das Águas Subterrâneas

A composição química de águas subterrâneas é regulada pela interação heterogênea entre as fases sólida, líquida e gasosa (Glynn e Plummer, 2005). Estes sistemas reativos apresentam múltiplas contribuições de base ácida, complexação superficial e aquosa, e reações de oxirredução, bem como envolvimento frequente de microrganismos procariontes. Também ocorrem processos de transporte de massa, tais como advecção e dispersão, que resultam em alterações na química das águas subterrâneas numa gama de escalas de tempo e comprimentos de trajetórias de fluxo.

Os procariontes contribuem para reações químicas nos sistemas de águas subterrâneas de duas maneiras: Primeiro, a atividade enzimática metabólica pode acelerar (catalisar) as reações lentas e forçar os correspondentes quocientes de reação a deslocarem-se rapidamente para o equilíbrio ou para fora dele. Segundo, as células de procariontes comportam-se como sólidos reativos microscópicos devido à reatividade química de grupos funcionais, tais como carboxil ou substituintes de fosforil, nos componentes macromoleculares das paredes celulares, revestimento externo, e substâncias poliméricas extracelulares (EPS). A intervenção metabólica dos microrganismos nas reações químicas afeta muitos aspectos da química das águas subterrâneas, incluindo pH, condições redox, processos de dissolução e precipitação mineral, e a especiação química dos solutos (Chapelle, 2000). Como sólidos reativos, as bactérias não só contribuem para a sorção (complexação da superfície) de íons dissolvidos, mas também servem como modelos de nucleação heterogênea para a precipitação mineral.

4.1 Equilíbrio Químico e Taxas de Reação em Águas Subterrâneas

As descrições dos processos químicos em sistemas de águas subterrâneas são geralmente formuladas em termos da lei de ação de massa e considerações sobre o balanço mássico, bem como cinética de reação. A aplicação destes aspectos básicos de física, química e termodinâmica fornece uma visão quantitativa da extensão, direção e taxa de reações químicas, incluindo as que envolvem microrganismos. Uma reação geral é apresentada na Equação 17.



A constante de equilíbrio (K) da lei de ação de massa correspondente é calculada como mostra a Equação 18.

$$K = \frac{\{C\}^c \{D\}^d}{\{A\}^a \{B\}^b} = e^{\frac{-\Delta G^0}{RT}}; \Delta G^0 = -RT \ln K \quad (18)$$

onde:

$\{A\},\{B\}$ = atividade dos reagentes (adimensional)

$\{C\},\{D\}$ = atividade dos produtos *em equilíbrio* com coeficientes estequiométricos apresentados em letras minúsculas (adimensional)

R = constante universal dos gases ideais (ML²)/(T²°K mol)

T = temperatura absoluta em graus Kelvin (°K)

G^0 = variação da energia livre de Gibbs (ML²)/(T² mol)

Para uma reação reversível em equilíbrio, as concentrações de reagentes e produtos permanecem constantes. Esta condição exige que as taxas das reações direta (R_d) e inversa (R_i) sejam iguais, como mostra a Equação 19, de modo que a constante de equilíbrio possa ser expressa conforme a Equação 20, com as correspondentes taxas de reação direta (k_d) e inversa (k_i).

$$R_d = k_d\{A\}^a\{B\}^b = R_i = k_i\{C\}^c\{D\}^d \quad (19)$$

$$K = \frac{k_d}{k_i} = \frac{\{C\}^c\{D\}^d}{\{A\}^a\{B\}^b} \quad (20)$$

A dependência das taxas de energia de ativação de temperatura e reação é evidente na lei de Arrhenius (Equação 1).

Uma condição muito interessante, especialmente para os sistemas de águas subterrâneas, é quando uma reação não está em equilíbrio. Quando isso ocorre, a energia livre de Gibbs para uma reação (ΔG_r) é descrita pela Equação 21.

$$\Delta G_r = \Delta G^0 + RT \ln \frac{\{C\}^c\{D\}^d}{\{A\}^a\{B\}^b} \quad (21)$$

Para atividades de reagentes e produtos fora do equilíbrio, definindo o quociente de reação dos produtos aos reagentes como Q , gera a Equação 22.

$$\Delta G_r = \Delta G^0 + RT \ln Q = RT \ln \frac{Q}{K} \quad (22)$$

A partir desta expressão, verifica-se que, em equilíbrio, Q é igual a K , portanto $\Delta G_r = 0$. Se Q for inferior a K , ΔG_r é negativo. Isto significa que a reação é espontânea. Inversamente, ΔG_r é positivo quando Q é maior que K , indicando que a reação não é possível, a menos que a energia seja fornecida por outra reação espontânea. A capacidade de utilizar a energia que produz reações espontâneas para conduzir reações energeticamente desfavoráveis é uma característica que define os processos biossintéticos no metabolismo microbológico.

A comparação entre os quocientes de reação e as constantes de equilíbrio é amplamente aplicada ao estudo das reações de dissolução mineral e de precipitação; contudo, existem diferenças tênues na terminologia e interpretação. Para as reações de

dissolução, a constante de equilíbrio é conhecida como constante do produto de solubilidade (K_{ps}) e o quociente de reação é denominado produto de atividade iônica (PAI). O índice de saturação (IS) é definido pela Equação 23.

$$IS = \log_{10} \frac{PAI}{K_{ps}} \quad (23)$$

Quando o PAI é igual a K_{ps} , $IS = 0$ e a solução está em equilíbrio em relação ao mineral. Se o PAI for maior que K_{ps} , o IS será positivo, o que indica que a solução está saturada e que a precipitação mineral é possível. Se o PAI for inferior a K_{ps} , o IS será negativo, o que indica que a solução está subsaturada e que é possível a dissolução do mineral.

4.2 Equilíbrio de Carbonatos e pH de Águas Subterrâneas

Em sistemas de águas subterrâneas, o pH é estabelecido quando a água meteórica entra em equilíbrio com o dióxido de carbono atmosférico (Langmuir, 1997). Isto resulta na formação de ácido carbônico diprótico (um ácido diprótico produz dois íons H^+ por molécula), que posteriormente sofre dissociação para formar primeiro o bicarbonato e depois o carbonato. Como primeiro produto de desprotonação do ácido carbônico, o comportamento anfotérico do bicarbonato (ou seja, a sua capacidade de reagir como ácido monoprótico ou como base) é particularmente importante para o pH das águas subterrâneas. As interações entre espécies inorgânicas dissolvidas são complexas; contudo, o impacto dos equilíbrios de carbonatos no pH pode ser explorado considerando o equilíbrio de cargas iônicas esperado em água meteórica preservada, como mostrado na Equação 24.

$$[H^+] = [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [OH^-] \quad (24)$$

Na ampla faixa de pH da maioria das águas naturais, as concentrações de carbonato e de íons hidroxila são muito menores do que a concentração de bicarbonato. Isto simplifica o balanço de carga para a Equação 25.

$$[H^+] = [HCO_3^-] \quad (25)$$

Combinando o balanço mássico com as constantes de equilíbrio da lei de ação de massas para a formação de ácido carbônico ($K_H = 10^{-1.47}$) e dissociação em bicarbonato ($K_1 = 10^{-6.35}$) resulta na concentração de prótons em função da pressão parcial de dióxido de carbono ($pCO_2 = 10^{-3.5}$), como mostra a Equação 26.

$$[H^+] = \sqrt{K_1 K_H pCO_2} \quad (26)$$

Esta relação resulta em um pH de 5,7 (correspondente a $-\log[H^+]$; Equação 2). A equação também mostra que um aumento da pressão parcial de dióxido de carbono tenderá a diminuir o pH, enquanto uma diminuição da pressão parcial de dióxido de carbono promove um aumento do pH.

Nos sistemas de águas subterrâneas, o dióxido de carbono é produzido a partir da degradação da matéria orgânica por microrganismos heterotróficos, sobretudo à medida que a água meteórica se infiltra através do solo e da zona insaturada. Como consequência, as pressões parciais de dióxido de carbono no subsolo são frequentemente maiores em relação à atmosfera aberta. Isto serve para aumentar a formação de ácido carbônico, que é a principal fonte de prótons para reações de desagregação e dissolução mineral em sistemas de águas subterrâneas (Kump et al., 2000; Wilson, 2004).

Enquanto a atividade microbiológica heterotrófica tende a aumentar a pressão parcial do dióxido de carbono, os autotróficos têm o efeito oposto, uma vez que dependem da absorção e redução do dióxido de carbono para o metabolismo celular. Se a procura metabólica de carbono for suficientemente elevada, pode ocorrer uma diminuição da pressão parcial de dióxido de carbono. Para compensar, o pH aumenta à medida que os prótons recombinaem com bicarbonato para compensar as diminuições nas concentrações de ácido carbônico. No subsolo, a influência dos autótrofos nos equilíbrios de carbonatos e pH geralmente não é tão pronunciada em comparação com os heterotróficos, particularmente em sistemas com concentrações elevadas de carbono inorgânico dissolvido.

4.3 Condições Redox

Reações de oxirredução mediadas por microrganismos desempenham um papel importante na regulação das condições redox nos sistemas de águas subterrâneas (Kuma e Riyazuddin, 2012; Liebensteiner et al., 2014; Tesoriero et al., 2015; Enright e Ferris, 2016; Enright et al., 2019). Isso porque os microrganismos dependem da transferência de elétrons vinda de doadores de elétrons reduzidos para aceptores terminais de elétrons oxidados como fonte de energia para crescimento e divisão celular. A energia de Gibbs destas reações é determinada pela diferença entre os potenciais redox oxidante (aceptor de elétrons) e redutor (doador de elétrons) de meia célula (Equação 16). As reações que proporcionam a máxima quantidade de energia para os microrganismos são favorecidas e normalmente dominam sobre as reações concorrentes. Os doadores de elétrons mais comuns nos sistemas de águas subterrâneas são o carbono orgânico dissolvido e as partículas de carbono orgânico (Shen et al., 2015). Em alguns casos, as formas reduzidas de nitrogênio, ferro e enxofre são importantes. Entre os aceptores de elétrons, o oxigênio produz mais energia do que qualquer outro oxidante na respiração aeróbia. Quando o oxigênio é esgotado, o aceptor de elétrons energeticamente mais favorável na respiração anaeróbia é o nitrato, seguido do manganês, óxido de ferro, sulfato, e finalmente o dióxido de carbono.

A natureza sequencial da utilização de aceptores de elétrons por microrganismos, que foi introduzida na Seção 3 como a "escada de potencial redox", tende a promover o desenvolvimento de condições cada vez mais reduzidas ao longo das trajetórias do fluxo de águas subterrâneas, dependendo da disponibilidade de doadores de elétrons (**Figura 13**). À medida que as condições redox se alteram, relacionar o esgotamento

sequencial de oxidantes e a produção correspondente de redutores conjugados distintos pode ser importante para identificar zonas específicas nas quais a atividade microbiológica é dominada por um único processo de aceitação de elétrons (Groffman e Crossey, 1999; McMahon e Chapelle, 2008). As concentrações limites características que foram sugeridas para a identificação de zonas redox em sistemas de águas subterrâneas são apresentadas na **Tabela 2**. É importante que ao interpretar estas concentrações limites sejam considerados fatores como diferenças na composição da comunidade microbiológica, disponibilidade de doadores de elétrons e escala em que ocorre a amostragem das águas subterrâneas.

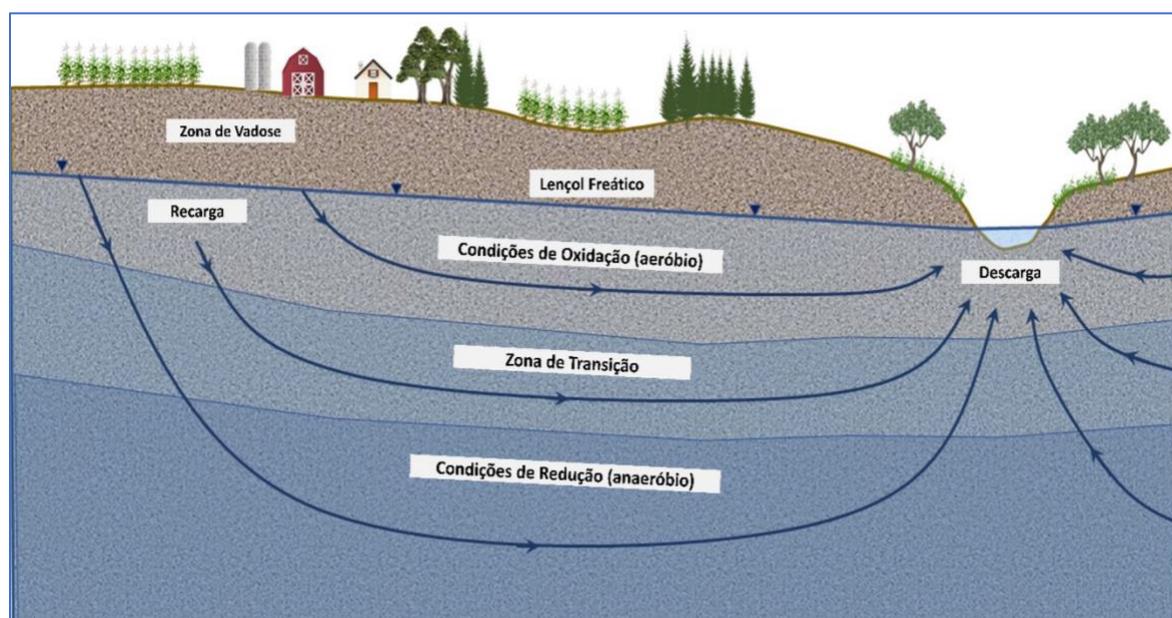


Figura 13 - Evolução das condições redox ao longo dos cursos de águas subterrâneas. Geralmente, as condições redox tendem a tornar-se mais reduzidas com o aumento da distância de deslocamento e do tempo de residência das águas subterrâneas. As condições redox nas zonas de descarga tendem a variar devido à mistura de águas subterrâneas e águas superficiais.

Tabela 2 - Concentrações limites sugeridas para identificar processo redox microbiano em sistemas de águas subterrâneas (McMahon e Chapelle, 2008).

Redox Process	Concentração em mg/L				
	O ₂	NO ₃ ⁻	Mn ²⁺	Fe ²⁺	SO ₄ ²⁻
Aeróbico (óxico)					
Redução de O ₂	> 0,5		< 0,05	< 0,1	
Anaeróbico (anóxico)					
Redução de NO ₃ ⁻	< 0,5	> 2,2	< 0,05	< 0,1	
Redução de Mn(IV)	< 0,5	< 2,2	> 0,05	< 0,1	
Redução de Fe(III)/SO ₄ ²⁻	< 0,5	< 2,2		> 0,1	> 0,5
Redução de CO ₂	< 0,5	< 2,2		> 0,1	< 0,5

O primeiro acceptor de elétrons utilizado ao longo dos cursos de águas subterrâneas é o oxigênio. Acredita-se que a transição da respiração aeróbica para a anaeróbica ocorra quando as concentrações de oxigênio caem abaixo de um nível de cerca de 0,5 mg/L. Para

o início da redução de nitratos (desnitrificação), o limiar de concentração de oxigênio pode ser de 2,0 mg/L, implicando um grau moderado de sobreposição com a respiração aeróbia. Isto é consistente com o crescimento de alguns microrganismos heterotróficos como anaeróbios facultativos, que utilizam tanto a respiração aeróbia como a anaeróbia. A redução do nitrato é também utilizada por vários litotróficos na oxidação de doadores de elétrons inorgânicos, tais como sulfetos ou óxido ferroso. As fontes de nitrato nas águas subterrâneas incluem fertilizantes agrícolas, bem como a oxidação microbiológica litotrófica do amônio liberado na decomposição por microrganismos de substâncias orgânicas ricas em nitrogênio.

Nos sistemas de águas subterrâneas, Mn(IV) e Fe(III) são relativamente abundantes, mas geralmente são encontrados como precipitados minerais de óxido insolúvel em detrimento de espécies iônicas dissolvidas. Devido a isto, concentrações dissolvidas elevadas de Mn^{2+} e Fe^{2+} produzidos a partir da dissolução reductiva de óxidos de ferro e manganês são utilizados como indicadores para identificar zonas de redução microbiológica ativa de Mn(IV) e Fe(III). A suscetibilidade de Mn^{2+} e Fe^{2+} a oxidação química e microbiológica, precipitação mineral e processos de sorção de fase sólida somam outra camada de complexidade biogeoquímica que poderia resultar numa subestimação da extensão da redução de Mn(IV) e Fe(III).

Depois de esgotado o oxigênio e o nitrato, é difícil distinguir entre zonas de Fe(III) ativo e redução de sulfato. Isto está relacionado com a dependência energética da redução de Fe(III) na forma cristalina dos óxidos de ferro presentes em um sistema de águas subterrâneas, bem como a variabilidade natural das concentrações de sulfato dissolvido. Como regra, os óxidos de ferro pouco ordenados são mais facilmente reduzidos por microrganismos do que as variedades cristalinas, como a goethita e hematita (Roden et al., 2004; Langley et al., 2009a). Estes óxidos de ferro de baixa complexidade podem ser considerados mais biodisponíveis, da mesma forma que os açúcares monossacarídeos de cadeia simples são mais biodisponíveis para leveduras do que os polissacarídeos de cadeia longa. Além disso, concentrações mais elevadas de sulfato ($\geq 0,5$ mg/L) são energeticamente mais favoráveis à redução de sulfato. Concentrações elevadas de sulfato também podem ser utilizados como substitutos para a redução de sulfato, reações sujeitas às mesmas limitações que se aplicam aos substitutos de Mn^{2+} e Fe^{2+} para a redução de Mn(IV) e Fe(III), respectivamente.

As condições redox sob as quais a redução do dióxido de carbono se torna o processo respiratório anaeróbio predominante geralmente são altamente redutoras devido a concentrações esgotadas de aceptores de elétrons mais fortemente oxidantes, como sulfato ($<0,5$ mg/L). É comum supor que a presença de metano torna o uso predominante como um substituto para a redução microbiológica do dióxido de carbono; contudo, isto pode ser equivocado, uma vez que alguns microrganismos metanogênicos produzem metano a partir da fermentação de ácido acético em vez da redução do dióxido de carbono.

Outros microrganismos produzem ácido acético a partir da redução do dióxido de carbono em vez da redução de metano.

Uma outra maneira de constatar mudanças nas condições redox ao longo de um fluxo de águas subterrâneas é acompanhar mudanças na composição da comunidade de microrganismos da zona insaturada (zona vadosa) para a zona saturada imediatamente abaixo do lençol freático. Isto pode ser realizado por meio de técnicas de biologia molecular para identificar e quantificar diferentes grupos metabólicos de microrganismos. Um estudo sobre um aquífero de areia rasa e intocada constatou que a abundância relativa de microrganismos que utilizam o oxigênio como acceptor de elétrons diminui à medida que a água se infiltra pela zona vadosa e se torna cada vez mais afastada da atmosfera (**Figura 14**). A aparente preferência pelo nitrato como um acceptor de elétrons pode ser atribuída à capacidade de alguns microrganismos crescerem como anaeróbios facultativos. Abaixo do lençol freático, a utilização de oxigênio como um acceptor de elétrons diminui enquanto os nitritos, Fe(III) e sulfato se tornam mais importantes. Quando se trata de doadores de elétrons (fonte de energia), a matéria orgânica e os processos heterotróficos dominam acima e abaixo do lençol freático. Com exceção dos microrganismos oxidantes de Fe(II) na zona insaturada, a abundância relativa de litotróficos utilizando doadores de elétrons inorgânicos é menor do que para os seus homólogos heterotróficos. Os minerais que contêm Fe(II) reduzido, tais como biotita e anfibólios, são candidatos como possíveis fontes de Fe(II) para sustentar o crescimento microbiano litotrófico, particularmente em condições relativamente oxidantes acima do lençol freático.

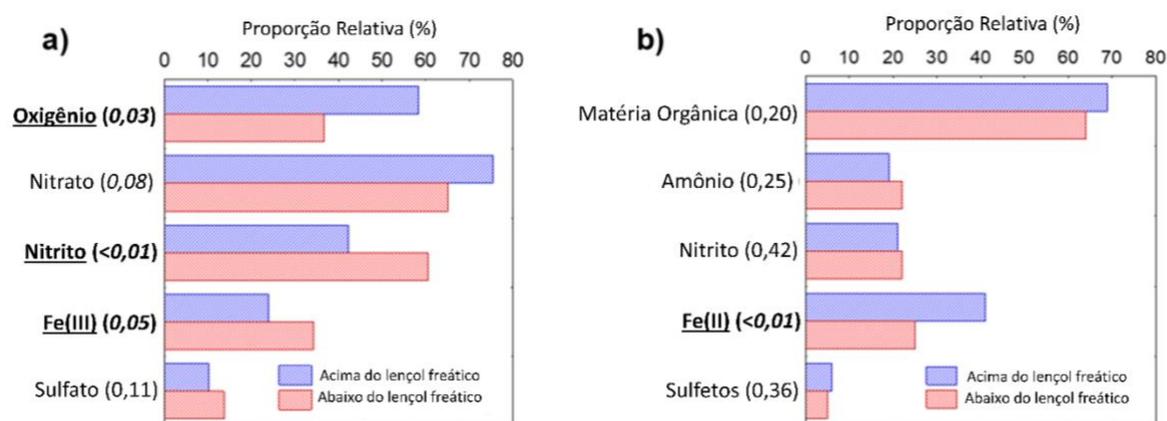


Figura 14 - Proporção relativa de potencial a) acceptor de elétrons e b) doador de elétrons entre bactérias em amostras de núcleo obtidas acima (barra azul) e abaixo (barra vermelha) do lençol freático, em um aquífero de areia rasa e intocada no *Canadian Shield* (Escudo canadense). O p-valor do Teste-t para a diferença nas proporções relativas médias de bactérias acima e abaixo do lençol freático são indicados entre parênteses; os valores significativos ($p < 0,05$) estão em itálico e os grupos metabólicos correspondentes estão sublinhados e em **negrito** (adaptado de Shirokova e Ferris, 2013).

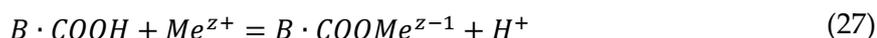
As contribuições microbiológicas para transformações redox em sistemas de águas subterrâneas não se limitam estritamente aos aceptores comuns de elétrons que dominam a respiração anaeróbia. De fato, os possíveis oxidantes para processos metabólicos em condições de redução incluem uma grande variedade de substâncias inorgânicas e

orgânicas, muitas das quais são considerados poluentes ambientais. Os redutores conjugados resultantes da utilização destes aceptores atípicos de elétrons por microrganismos apresentam frequentemente propriedades físicas, químicas e biológicas diferentes dos compostos originais. Usando o cromo como exemplo, a redução microbiana de Cr(VI) sob a forma de cromato dissolvido (CrO_4^{2-}) a Cr(III) produz o íon Cr^{3+} , que é altamente insolúvel. Uma diferença importante entre os estados de oxidação Cr(VI) e Cr(III) é que o cromo hexavalente é altamente tóxico, enquanto o cromo trivalente é um importante nutriente traço. O íon arseniato (AsO_4^{3-}) é outro importante acceptor de elétrons em águas subterrâneas, entretanto a contaminação por arsênio é um risco para a saúde humana (Gorra et al., 2012). Entre os contaminantes orgânicos das águas subterrâneas, os solventes clorados altamente oxidados como o tetracloroetileno (PERC) e o tricloroetileno (TCE) são conhecidos por se comportarem como aceptores de elétrons e por se submeterem a uma descloração redutora gradual no metabolismo microbiano. Embora isto contribua para a atenuação do PERC e do TCE, um resultado indesejável em alguns cenários é a produção e acumulação do intermediário cancerígeno cloreto de vinila (PVC).

4.4 Comportamento de Bactérias como Sólidos Geoquimicamente Reativos

A reatividade da fase sólida das células microbianas está relacionada com a presença de grupos funcionais ácidos, tais como grupos carboxil ou fosforil, nos polímeros estruturais das suas paredes celulares, revestimentos externos e polissacarídeos extracelulares (Kulczycki et al., 2002, 2005; Kennedy et al., 2011; Hao et al., 2013). A desprotonação destes vários grupos funcionais contribui para o desenvolvimento da carga superficial nas células e proporciona locais de complexação discreta para a sorção eletrostática dos íons dissolvidos (Martinez e Ferris 2001; Smith e Ferris, 2001; Sokolov et al., 2001; Phoenix et al., 2007). Estas reações são especialmente importantes para a partição da fase sólida dos íons dissolvidos que estão presentes nas águas subterrâneas em uma concentração inferior a imposta pela solubilidade que qualquer mineral possa ocorrer.

Uma reação de sorção competitiva entre um próton (H^+) e um cátion metálico (Me^{z+}) num local de ligação de carboxil de superfície protonada em uma célula microbiana ($\text{B} \cdot \text{COOH}$) pode ser descrita como a Equação 27.



A liberação de prótons e sorção de cátions metálicos é descrita pela constante de taxa aparente (K_{app}) e constante de sorção adicional de pH (K_{pH}) (Equação 28).

$$K_{pH} = \frac{K_{app}}{[\text{H}^+]} = \frac{[\text{B} \cdot \text{COOMe}^{z-1}]}{[\text{B} \cdot \text{COOH}][\text{Me}^{z+}]} \quad (28)$$

A expressão de equilíbrio da lei de ação de massas enfatiza que a sorção iônica por microrganismos não depende apenas das concentrações de prótons e cátions metálicos dissolvidos, mas também do número de grupos químicos reativos por célula.

A dependência do pH das reações de sorção iônica é uma importante característica intrínseca dos sorbentes de fase sólida, incluindo microrganismos. Para os metais que existem predominantemente como cátions em solução, a sorção é significativamente melhorada à medida que o pH aumenta e os grupos de superfície desprotonam. Pelo contrário, os aniões de metais e os metaloides sorvem melhor a baixos valores de pH, à medida que os grupos de superfície se tornam protonados. As propriedades químicas dos íons sorbato também influenciarão o comportamento de sorção. Um fator particularmente importante é o potencial iônico, ou a relação entre a carga elétrica e o raio de um íon. A sorção de íons menores e altamente carregados é favorecida em relação aos íons maiores e fracamente carregados. Uma alteração na carga iônica resultante de reações de complexação aquosa tem um efeito semelhante, uma vez que a força de sorção tende a diminuir quando os íons são complexados.

Um gráfico que descreve a quantidade de uma espécie química dissolvida que é sorvida por um sorbente em função do aumento da concentração, medida a uma temperatura constante, é chamada isoterma de sorção. Foram utilizados três tipos principais de isotermas de sorção para quantificar as reações envolvendo bactérias e outros sólidos sorbentes. Considerando um cátion metálico como o sorbato, o primeiro tipo de isoterma de sorção é representado por um coeficiente de distribuição linear (partição) (K_d), como ilustrado pela Equação 29.

$$[B \cdot Me^{z-1}] = K_d [Me^{z+}] \quad (29)$$

Uma grande limitação da distribuição isoterma linear (**Figura 15a**) é que não se considera o número finito de sítios de sorção que existem num sorbente de fase sólida. Ao invés de aumentar constantemente com concentrações crescentes de sorbato, a quantidade que é sorvida tenderá a diminuir progressivamente à medida que os sítios de sorção forem sendo ocupados. Isto pode levar a uma superestimação da quantidade de uma espécie química que é sorvida, particularmente em altas concentrações de sorbato. O desvio do comportamento linear é capturado até determinado limite na isoterma empírica de sorbato de Freundlich, que é demonstrada na Equação 30.

$$[B \cdot Me^{z-1}] = K_F [Me^{z+}]^{1/n} \quad (30)$$

onde:

K_F = Coeficiente de sorção de Freundlich (L^3/M)

$1/n$ = Expoente de não-linearidade (**Figura 15b**)

Onde em $n = 1$, a relação de Freundlich reduz-se à distribuição isoterma linear. A isoterma de Freundlich é limitada visto que não inclui uma relação para o número de sítios de sorção disponíveis, nem permite variações no pH e na força iônica. Isto torna difícil a comparação de interpretações de dados de sorção entre locais.

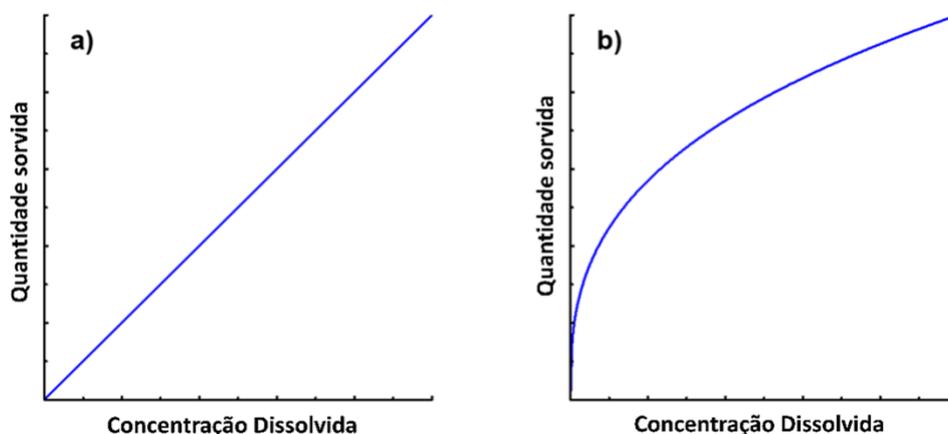


Figura 15 - Comparação da quantidade sorvida em função do aumento da concentração de sorbato dissolvido em equilíbrio, previsto pela a) distribuição normal e b) isoterma de sorção de Freundlich.

A isoterma de Langmuir é o terceiro tipo de isoterma de sorção (**Figura 16**). Derivada da ação das massas e considerações sobre balanço mássico, a isoterma de Langmuir é amplamente utilizada na geoquímica ambiental e microbiológica. Do número total de sítios de sorção disponíveis (B_{Total}), o número de sítios desocupados é expresso pela Equação 31.

$$[B \cdot COOH] = B_{Total} - [B \cdot Me^{z-1}] \quad (31)$$

Substituindo a Equação 31 na expressão de ação de massas (Equação 27) e rearranjando, resulta na Equação 32.

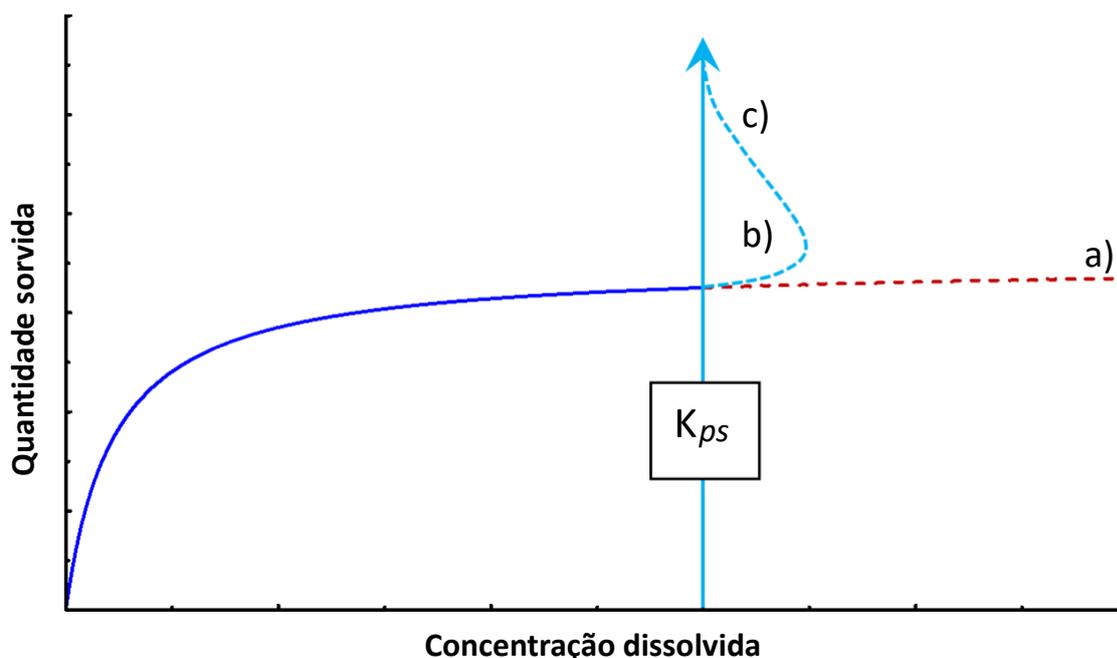


Figura 16 - Ilustração da Isoterma de sorção de Langmuir. a) A quantidade sorvida aumenta de forma assintótica com a concentração de sorbato dissolvido em equilíbrio até todos os locais de sorção estarem preenchidos e saturados. b) Se a concentração de sorbato dissolvido exceder o limite de

solubilidade de uma fase mineral (K_{ps}), pode ocorrer precipitação superficial e resultar num aumento aparente da quantidade sorvida. c) Se os precipitados superficiais iniciais forem pequenos e mais solúveis que os cristais maduros maiores, as concentrações dissolvidas podem aumentar para além do limite de K_{ps} antes de diminuírem à medida que os precipitados minerais superficiais crescem em tamanho.

$$[B \cdot Me^{z-1}] = \frac{B_{Total}K_{pH}[Me^{z+}]}{(1 + K_{pH}[Me^{z+}])} = \frac{B_{Total}K_{app}[Me^{z+}][H^+]^{-1}}{(1 + B_{Total}K_{app}[Me^{z+}][H^+]^{-1})} \quad (32)$$

Uma característica fundamental da isoterma de Langmuir é que, em concentrações elevadas de íon sorbato (e pH elevado no caso da sorção catiônica), a quantidade sorvida a partir da solução aproxima-se de forma assintótica (saturada) do número total de sítios de sorção disponíveis. Uma vez preenchidos todos os sítios, não ocorrerá mais sorção. Se as concentrações de íons dissolvidos continuarem a aumentar, a solução pode eventualmente ficar saturada em relação a algum tipo de fase mineral. Isto pode desencadear uma nucleação heterogênea e precipitação superficial de minerais em sorbentes, tais como células bacterianas. A transição entre a sorção e a precipitação superficial é representativa de um contínuo reativo de reações de partição de fase sólida para íons dissolvidos, tanto em sistemas puros como contaminados (Warren e Ferris, 1998).

4.5 Dissolução e Precipitação Mineral

As águas subterrâneas geralmente estão em contato simultâneo com diferentes minerais sólidos. Em baixas profundidades, a infiltração de água meteórica subsaturada geralmente promove a dissolução mineral. A dissolução de minerais não só contribui para a captura de solutos pelas águas subterrâneas como também favorece o desenvolvimento da porosidade secundária e o aumento da condutividade hidráulica. Isto é especialmente acentuado em sistemas cársticos que ocorrem em áreas com rocha-mãe carbonatada. Com o aumento da profundidade e do tempo de permanência no subsolo, as águas subterrâneas aproximam-se gradualmente do equilíbrio em relação aos minerais presentes. Ao mesmo tempo, as reações químicas e microbiológicas podem fazer com que as águas subterrâneas fiquem super ou subsaturadas e provocar precipitação ou dissolução mineral, respectivamente. Em contraste com as reações de dissolução, os processos de precipitação mineral nos sistemas de águas subterrâneas promovem a formação de revestimentos em grãos minerais e superfícies de aberturas e/ou fraturas. Isso pode levar à cimentação e fechamento das aberturas dos poros, causando redução da porosidade e da condutividade hidráulica.

Os processos de dissolução mineral são classificados como reações congruentes ou incongruentes. A dissolução congruente refere-se a minerais que se dissolvem completamente nos seus íons constituintes, enquanto a dissolução incongruente se aplica a minerais que se dissolvem parcialmente e geram um produto sólido residual de decomposição. Ambos os processos de dissolução mineral tendem a consumir prótons como reagentes, o que força a liberação de cátions sorvidos em solução para conservar a eletroneutralidade.

A fonte mais comum de prótons nas reações de dissolução mineral é o ácido carbônico, que é gerado a partir da degradação da matéria orgânica pela atividade microbiológica heterotrófica. Outros ácidos inorgânicos e orgânicos também são produzidos por microrganismos. Estes incluem ácido sulfúrico proveniente da oxidação de minerais de sulfetos, bem como uma grande variedade de ácidos carboxílicos, como os ácidos acético e oxálico. Entre estes, sabe-se que os ácidos orgânicos contribuem para as reações de dissolução mineral, promovidas pelos ligantes, por complexação de cátions liberados. Nestas reações, a base (L) de um ácido (HL) é o ligante complexante de metal para o cátion metálico (Me^{z+}), como mostrado na Equação 33.



No ligante promotor da dissolução, a formação do complexo metálico essencialmente remove o cátion metálico livre (produto da reação de dissolução) da solução. Isto provoca um deslocamento do equilíbrio e sustenta uma maior dissolução, de acordo com o princípio de Le Chatelier. A mesma mudança na solubilidade de equilíbrio de um mineral acontece quando ocorre uma mudança no estado de oxidação de um produto de dissolução. Por exemplo, a oxidação de Fe^{2+} para Fe^{3+} a partir da dissolução de minerais silicato de Fe(II) por bactérias litotróficas oxidantes de Fe(II) promove a reação de dissolução (Shelobolina et al., 2012; Shirokova et al., 2016).

Dos vários microrganismos ativos sob condições anaeróbias, os redutores dissimilatórios de ferro e manganês são notáveis como agentes ativos na dissolução redutora de minerais de óxido. Os óxidos de ferro e de manganês utilizados por estes microrganismos como fonte acceptora de elétrons para a respiração anaeróbia ocorrem tipicamente como revestimentos finos sobre outros grãos minerais, bem como materiais orgânicos particulados. A dissolução destes revestimentos por redução microbiana em condições de baixa disponibilidade de oxigênio resulta frequentemente em uma cor característica denominada *gleyic* (coloração similar ao de solo pantanoso – azul esverdeada cinzenta), tais como as características evidenciadas em amostras de cortes e núcleos de zonas de redução de Mn(IV) e Fe(III) em sistemas de águas subterrâneas (**Figura 17**).



Figura 17 - Escavação expondo uma coloração gleyic (azul esverdeada cinzenta) produzida na base de um talude florestal (perfil inferior) em resposta à infiltração de água e à redução microbiológica de minerais de óxido de ferro marrom avermelhado (dois perfis superiores) em condições anaeróbias. A distância ao longo da escavação é de cerca de 2,0 m e a profundidade do perfil inferior é de cerca de 0,6 m (Reproduzido sob os termos de Creative Commons Attribution 3.0, licença de Schwarz et al., 2018).

Os microrganismos contribuem para a precipitação de uma grande variedade de minerais, incluindo óxidos, fosfatos, carbonatos, sulfetos e silicatos, como mostra a **Figura 18** (Fortin et al., 1997; Ferris et al., 2000). Os mecanismos de precipitação mineral microbiana são diversos, mas geralmente envolvem duas fases distintas: nucleação e crescimento de cristais. A nucleação é a fase mais crítica para a precipitação mineral e ocorre de forma homogênea ou heterogênea. Nas reações homogêneas os núcleos minerais são formados pela colisão aleatória de íons em solução. Inversamente, a nucleação heterogênea

envolve a formação de núcleos de cristais nas superfícies de minerais homólogos (superfícies minerais cristalográficas semelhantes) ou sólidos estranhos, tais como células microbianas. Destes dois processos de nucleação, a nucleação heterogênea domina nos sistemas de águas subterrâneas. Uma vez formado um núcleo estável, o crescimento dos cristais pode ocorrer espontaneamente, desde que as concentrações de íons em solução excedam o produto de solubilidade da fase mineral sólida (a solução deve ser supersaturada).

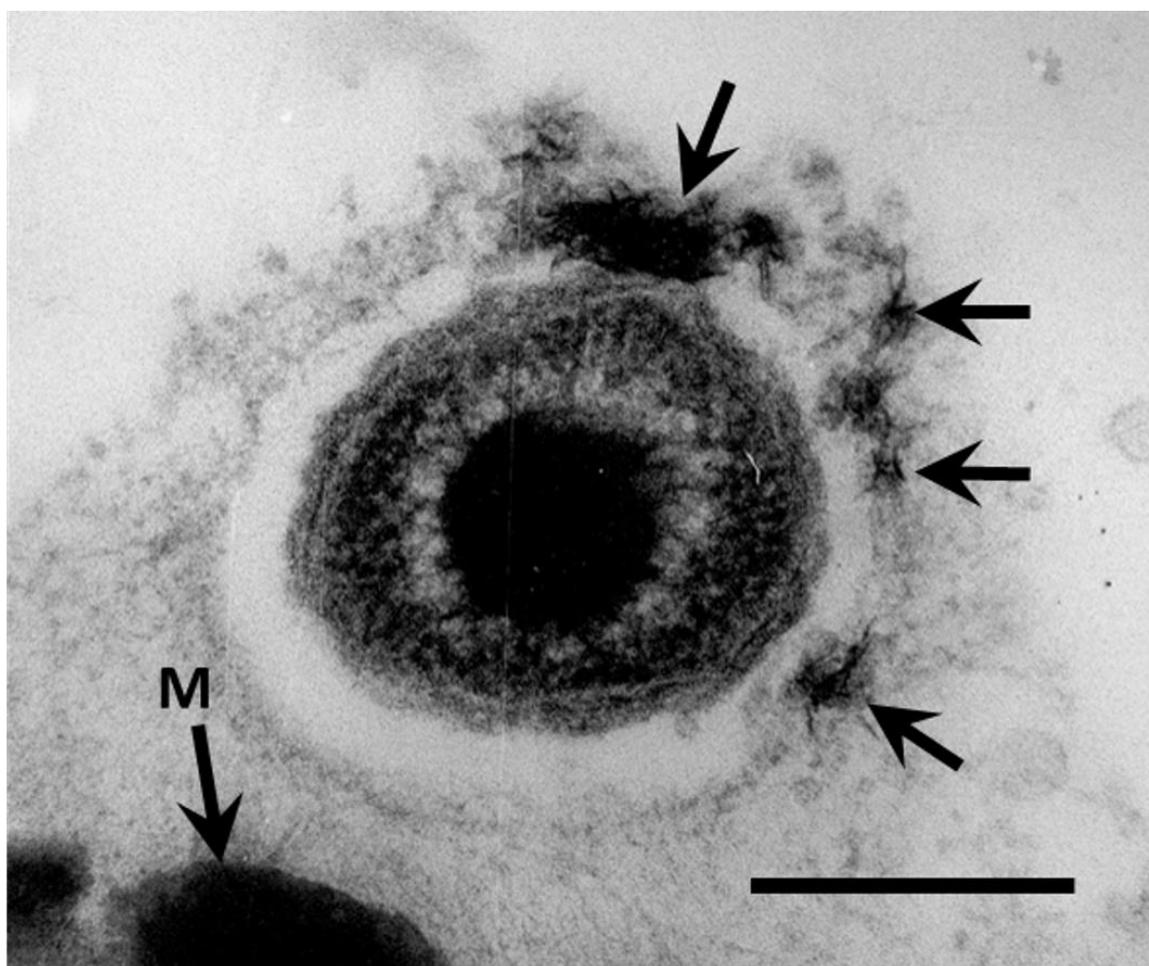


Figura 18 - Micrografia eletrônica de transmissão de seção fina mostrando nucleação heterogênea e precipitação de uma fase mineral sólida (indicada por setas) sobre uma célula bacteriana ligada a um grão mineral (M). Barra de escala = 360 nm.

A energia de Gibbs para nucleação de cristais é limitada pela energia livre de massa (ΔG_{massa}) de uma solução e pela energia livre interfacial ($\Delta G_{interface}$) da fase sólida correspondente, como mostra a Equação 34.

$$\Delta G_r = \Delta G_{massa} + \Delta G_{interface} \quad (34)$$

O termo energia livre é uma função do grau de saturação de uma solução (Equação 21), tal como expresso pela Equação 35.

$$\Delta G_{massa} = -RT \ln \frac{PAI}{K_{So}} = -2,303RT \log_{10} \frac{PAI}{K_{So}} = -2,303RT (IS) \quad (35)$$

Enquanto a energia livre interfacial depende da tensão superficial interfacial da fase mineral (γ) e da área de superfície molar do núcleo em contato com a água (A_{ca}), conforme descrito pela Equação 36.

$$\Delta G_{interface} = A_{ca}\gamma \quad (36)$$

O termo energia livre interfacial representa o trabalho que deve ser feito para criar uma superfície mineral. Juntas, estas relações proporcionam um modelo útil para melhor compreender as contribuições microbiológicas para a precipitação mineral.

A atividade microbiana desencadeará frequentemente uma mudança na química da solução, que levará a uma supersaturação e a um valor IS mais elevado. Por exemplo, a oxidação bacteriana do Fe(II) frequentemente resulta em concentrações de Fe³⁺ dissolvidas que excedem a solubilidade dos óxidos de ferro (Emerson et al., 2010; Edwards et al., 2018). Isto por si só pode induzir à precipitação mineral ao diminuir a maior parte do termo de energia livre para reações de nucleação homogêneas e heterogêneas. Contudo, os locais quimicamente reativos em células microbianas que facilitam a sorção iônica nos locais de nucleação tenderão a reduzir a energia média da superfície interfacial da fase sólida e a diminuir a superfície do núcleo em contato com a solução. O resultado esperado é uma redução da energia global livre interfacial, que conduz a uma nucleação e precipitação heterogêneas.

5 Transporte de Microrganismos em Águas Subterrâneas

Os microrganismos nos sistemas de águas subterrâneas podem ser classificados com base na sua origem e grau de isolamento dos ambientes superficiais. Os microrganismos autóctones são aqueles que são residentes permanentes a longo prazo no subsolo, enquanto os alóctones provêm de outros ambientes, tais como águas superficiais ou solo. O isolamento físico e a adaptação de microrganismos autóctones à vida no subsolo é um exemplo de especiação e evolução alopátrica (não sobreposta) durante longos períodos, talvez milhares de milhões de anos no caso de alguns ambientes de águas subterrâneas profundas (> 1000 m de profundidade) (Magnabosco et al., 2018). Os microrganismos alóctones são frequentemente transportados para o subsolo com recarga por meio de percolação da água de superfície. Com o tempo, os microrganismos alóctones podem tornar-se parte da comunidade microbiana autóctone à medida que se adaptam às condições de vida no subsolo.

Nos sistemas de águas subterrâneas, os microrganismos planctônicos flutuantes livres sofrem um transporte advectivo como espécies de partículas em suspensão que se deslocam juntamente com a água nos poros. A velocidade de transporte é governada pelo gradiente de pressão hidráulica, porosidade e distribuição da permeabilidade, de acordo com a lei de Darcy. O transporte de microrganismos em águas subterrâneas também está sujeito aos efeitos da difusão e dispersão hidrodinâmica. O movimento de nutrientes dissolvidos e aceptores de elétrons são acoplados aos mesmos processos, que são descritos pelas equações de dispersão por advecção (Equação 37) para a taxa de transporte de massa (Brun e Engesgaard, 2002; Steefel et al., 2005; Tufenkji, 2007).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \left[D_x \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + D_y \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + D_z \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right] - \left[v_x \frac{\partial C}{\partial x} + v_y \frac{\partial C}{\partial y} + v_z \frac{\partial C}{\partial z} \right] \quad (37)$$

onde:

x, y, z = principais direções de transporte em três dimensões (L)

C = concentração de soluto dissolvido ou partículas suspensas (M/L³)

D = coeficiente de dispersão hidrodinâmica (L²/T)

v = velocidade linear média (L/T)

t = tempo (T)

Os microrganismos estão sujeitos a um fenômeno de transporte conhecido como *exclusão por tamanho*. Quando isto acontece, as partículas em suspensão transportadas parecem mover-se mais rapidamente e passar por menos dispersão do que os solutos conservadores (não reagentes). A exclusão por tamanho no transporte de microrganismos é evidente em curvas de ruptura a partir de uma gama menor de concentrações

normalizadas (C_t/C_0) e tempos de retenção mais curto dos microrganismos em comparação com um marcador dissolvido (**Figura 19**). As experiências de campo indicam que as células dos microrganismos podem ser transportadas em velocidades até 70 por cento superiores à velocidade linear média da água do poro.

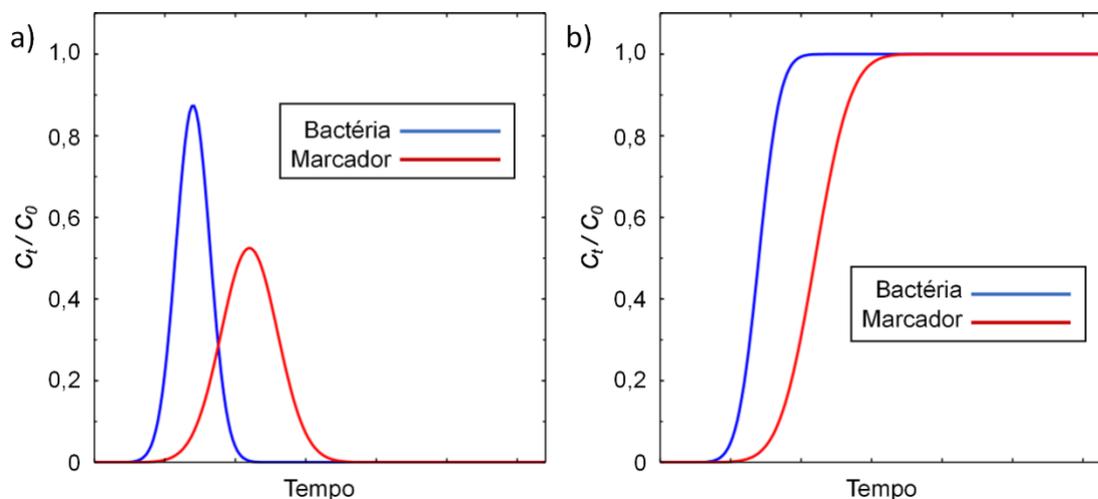


Figura 19 - Curvas de ruptura de concentrações normalizadas ao longo do tempo a) após uma injeção descontínua e b) durante a injeção contínua de uma suspensão bacteriana com um marcador dissolvido.

A razão para o transporte mais rápido de microrganismos como resultado da exclusão por tamanho está relacionada com a distribuição hiperbólica das velocidades de água dentro dos poros. A velocidade máxima ocorre ao longo da linha central, enquanto o atrito e outras forças reduzem a velocidade da água nas paredes dos poros a zero. Na escala molecular dos solutos dissolvidos, a distribuição completa das velocidades da água é amostrada em processos de transporte. Quando se trata dos microrganismos e outras partículas em suspensão, em virtude do tamanho maior as velocidades mais elevadas são observadas perto da linha central dos poros, levando a uma velocidade média mais rápida do que a de uma substância traço dissolvida.

A remoção de bactérias suspensas das águas subterrâneas é mediada por processos de retenção e filtração. A retenção envolve o aprisionamento de microrganismos em canais ou aberturas de poros que são muito pequenos para permitir a passagem. Este processo não é apenas uma função da porosidade, mas também depende da geometria dos poros e da tortuosidade dos caminhos de fluxo das águas subterrâneas. A filtração física refere-se à remoção de bactérias suspensas das águas subterrâneas por colisão e deposição nas superfícies das paredes dos poros. A probabilidade de ressuspensão após a filtração depende da interação entre o cisalhamento hidrodinâmico e as forças de aderência interfaciais (afinidade de sorção). Após a deposição, as células microbianas podem secretar grandes quantidades de EPS para aumentar a aderência e iniciar a formação de biofilme.

À medida que as células bacterianas suspensas são transportadas nas águas subterrâneas, elas podem absorver substâncias dissolvidas da solução e transportá-las, mascarando-se como sólidos particulados. Este processo combinado é conhecido como

transporte facilitado. Se as espécies químicas sorvidas forem provenientes de uma fonte pontual, como um derramamento de contaminante, os processos de exclusão por tamanho no transporte bacteriano podem diminuir o tempo e aumentar a distância sobre a qual um contaminante se move. Da mesma forma, o transporte facilitado tem um potencial considerável para auxiliar na transferência de nutrientes de uma área rica em nutrientes para uma área pobre em nutrientes, estimulando assim a atividade microbiana por fluxos de águas subterrâneas mais longos.

Em todo o mundo, uma fração significativa de doenças transmitidas pela água são causadas pela introdução e transporte de microrganismos patogênicos alóctones (protozoários, bactérias e vírus) em sistemas de águas subterrâneas. Muitos dos patógenos microbianos nas águas subterrâneas, se não a maioria, são contaminantes derivados de resíduos fecais humanos e animais. As fontes primárias desses microrganismos causadores de doenças incluem fossas sépticas com falha, infiltração de lagoas de resíduos, linhas de esgoto com vazamento e aterros sanitários antigos ou incorretamente vedados (Macler e Merkle, 2000). Aquíferos rasos não confinados estão particularmente em risco de contaminação microbiana devido à sua proximidade com fontes superficiais (Jin e Flury, 2002; Pandey et al., 2014).

O tamanho grande de protozoários patogênicos, como *Giardia* e *Cryptosporidium*, é uma característica que contribui para a filtração, limitando o seu transporte a curtas distâncias em sistemas de águas subterrâneas (**Figura 20**). Por esta razão, a presença de protozoários em aquíferos mais profundos é um indicativo de introdução direta de água superficial, a partir do fluxo descendente através de rocha fraturada ou cárstica não consolidada e limitada com camadas de solo sobrepostas (Jin e Flury, 2002). Por outro lado, patógenos microbianos menores, como bactérias e vírus, são menos propensos a sofrer exclusão por tamanho e acabam sendo transportados por distâncias maiores em águas subterrâneas do que os protozoários (**Figura 20**) (Taylor et al., 2004; Tufenkji, 2007).

Os processos de filtração e exclusão por tamanho enfatizam a importância de considerar a natureza e o espaço poroso relativo do meio geológico avaliando o destino, transporte de patógenos e a vulnerabilidade das águas subterrâneas. Fatores adicionais, como a química da solução, características do vírus e da superfície celular, propriedades do solo e temperatura influenciam a sobrevivência, transporte e sorção de patógenos microbianos em meios porosos (Jin e Flury, 2002; Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos [USEPA], 2002; Pang et al., 2004). Essas considerações são particularmente relevantes ao se avaliar a distância de recuo entre fossas sépticas, nascentes de água e linhas costeiras. Mais informações sobre o gerenciamento de sistemas sépticos para evitar a contaminação das águas subterrâneas estão disponíveis em [USEPA website](#) [↗] e Pang e outros (2004).

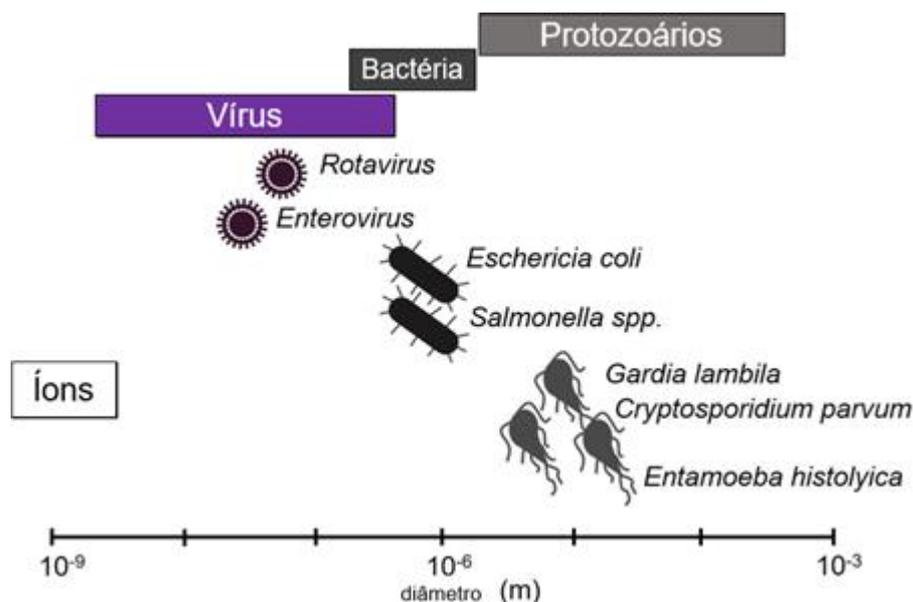


Figura 20 - Exemplos de patógenos microbianos encontrados em águas superficiais e subterrâneas que são de interesse para a saúde humana e ambiental. Devido ao seu grande tamanho e suscetibilidade à deformação, os protozoários são indicadores gerais de contaminação das águas superficiais. Alternativamente, bactérias e vírus menores podem ser transportados para as águas subterrâneas (McKay et al., 1993; Taylor et al., 2004). A presença de patógenos microbianos em águas subterrâneas é frequentemente inferida pela detecção de bactérias indicadoras fecais, incluindo bactérias coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus* e colifagos (vírus que infectam bactérias coliformes). Esses microrganismos indicadores, semelhantes a outros patógenos, geralmente não crescem fora de seus ambientes naturais. Sua capacidade de sobreviver em ambientes de águas subterrâneas é limitada por condições como temperatura, competição com outras bactérias, predação por outros organismos e aprisionamento em espaços porosos (Macler e Merkle, 2000; Jin e Flury, 2002). Portanto, encontrar bactérias indicadoras fecais nas águas subterrâneas em números mensuráveis significa que há uma maior probabilidade de patógenos também estarem presentes.

6 Microbiologia de Águas Subterrâneas Aplicada

A microbiologia de águas subterrâneas é aplicada em uma ampla variedade de processos que foram desenvolvidos não apenas para a biorremediação *in situ* de contaminantes orgânicos e inorgânicos, mas também para o controle e gerenciamento do fluxo de águas subterrâneas. O sucesso dessas aplicações decorre da intensa flexibilidade metabólica que existe entre os diferentes microrganismos e sua influência na geoquímica das águas subterrâneas, incluindo reações de adsorção de fase sólida heterogênea e precipitação mineral. Outro fator importante, que vale a pena enfatizar novamente, é o pequeno tamanho das células microbianas: esse atributo físico é o que permite que os microrganismos tenham acesso e residam em habitats subterrâneos que sofrem contaminação ou são foco para o gerenciamento do fluxo de águas subterrâneas.

Uma consideração primária para a biorremediação *in situ* é o estado de oxidação, que determina se os contaminantes podem ser metabolizados por microrganismos como um doador de elétrons (reduzidor) ou um aceptor de elétrons (oxidante), ou se não podem ser metabolizados (como é o caso de elementos que não possuem estados de oxidação múltipla, como estrôncio ou cádmio). Se um contaminante estiver sujeito ao metabolismo microbiano, ele pode ser removido das águas subterrâneas por biotransformação (degradação oxidativa ou redutiva) em produtos inertes. As alternativas para contaminantes que não podem ser metabolizados incluem captura e imobilização por adsorção ou coprecipitação em minerais precipitados em resposta à atividade metabólica microbiana.

6.1 Biorremediação Microbiana e Remoção de Contaminantes de Águas Subterrâneas

A biorremediação microbiana tornou-se uma tecnologia amplamente utilizada por ser vista como uma abordagem mais sustentável e econômica em comparação com outros métodos de tratamento (por exemplo, sistemas de bombeamento e tratamento). Foi implementada com sucesso em muitas operações de limpeza envolvendo águas subterrâneas contaminadas com poluentes orgânicos, como hidrocarbonetos de petróleo e solventes orgânicos clorados, bem como gerenciamento e controle de plumas de poluição provenientes de lixiviados de aterros sanitários (USEPA, 1998, 2002, 2013). Os contaminantes de hidrocarbonetos de petróleo abrangem uma ampla gama de substâncias químicas orgânicas reduzidas, incluindo compostos BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) que são normalmente usados como doadores de elétrons no metabolismo microbiano. O oposto é verdadeiro para solventes clorados, como tetracloreto de carbono (PCE) e tricloroetileno (TCE), que são altamente oxidantes e metabolizados como aceptores de elétrons.

Três estratégias diferentes são usadas na biorremediação de águas subterrâneas:

- *atenuação natural* – onde a comunidade microbiana autóctone (natural) é deixada para eliminar o contaminante alvo sem intervenção humana, contando com processos físicos, químicos e microbiológicos que ocorrem naturalmente dentro de uma pluma de contaminante;
- *bioestimulação* – onde a comunidade microbiana natural é estimulada a eliminar o contaminante alvo pela adição de nutrientes essenciais; e
- *bioadição* – onde, além de nutrientes, cepas selecionadas de bactérias podem ser injetadas no subsolo para promover a eliminação do contaminante alvo.

O sucesso dessas estratégias depende se há disponibilidade de aceptores de elétrons e doadores de elétrons apropriados, se o contaminante alvo é reduzido (por exemplo, hidrocarbonetos de petróleo) ou oxidado (por exemplo, solventes clorados) e se as taxas de fluxo de água subterrânea são lentas o suficiente para permitir a ocorrência de biodegradação (Christensen et al., 2000).

A *biodegradação aeróbia* de contaminantes orgânicos reduzidos ocorre na presença de oxigênio (Haritash e Kaushik, 2009; Bamforth e Singleton, 2005). Isso significa que o sucesso da biorremediação aeróbia depende diretamente da disponibilidade de oxigênio. Se o oxigênio se tornar limitante, como costuma acontecer em sistemas de águas subterrâneas, ele pode ser fornecido diretamente ao subsolo por aspersão de ar ou por meio da injeção de um oxidante químico (por exemplo, peróxido de hidrogênio), que se decompõe para liberar oxigênio.

Na ausência de oxigênio, a *biodegradação anaeróbia* pode ocorrer usando aceptores de elétrons, como nitrato ou sulfato, para oxidação metabólica de um contaminante. Essa abordagem é amplamente empregada em locais contaminados com hidrocarbonetos de petróleo, nos quais o oxigênio foi esgotado (Chandra et al., 2013; Meckenstock et al., 2016; Varjani e Upasani, 2017). Para estimular a biodegradação anaeróbia, um aditivo que contém acceptor de elétrons, como o sulfato, pode ser adicionado para promover a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo (USEPA, 2013).

Condições anaeróbias também são necessárias para a descloração inicial de solventes orgânicos altamente clorados, como PCE e TCE, que servem como aceptores de elétrons (Hopkins et al., 1993; Meckenstock et al., 2015). À medida que esses compostos são metabolizados, os átomos de cloro são removidos e substituídos por átomos de hidrogênio para formar produtos (redutores conjugados) que são menos oxidados do que o composto clorado original. Em alguns casos, os produtos não são suficientemente oxidados para servir como aceptores de elétrons, e só podem ser degradados como doadores de elétrons na respiração aeróbia. Por exemplo, PCE e TCE são altamente oxidados e sofrem apenas descloração reductiva parcial para dicloroetano (DCE), cloreto de vinila (PVC) e cloreto de etila (CE) menos oxidados (Mohn e Tiedje, 1992; Kielhorn et al., 2000). A oxidação subsequente de DCE, PVC e CE em formas não tóxicas de etileno, etano

ou etanol requer condições aeróbias (Semprini et al., 1990; Semprini e McCarty, 1991; Hopkins et al., 1993).

Microrganismos podem ser usados para remover contaminantes inorgânicos, como compostos nitrogenados (por exemplo, nitrato ou amônio) que estão presentes em águas subterrâneas em quantidades acima das diretrizes regulatórias, bem como metais tóxicos ativos redox e metaloides. No entanto, ao contrário dos contaminantes orgânicos que os microrganismos podem degradar por oxidação em dióxido de carbono ou nutrientes que podem ser absorvidos e assimilados durante o metabolismo, a degradação de contaminantes metálicos e metaloides é realizada por meio de processos metabólicos dissimilatórios que removem ou fornecem elétrons para a energia celular (Lovely e Coates, 1997; USEPA, 2013). As aplicações comuns incluem a redução microbiana de Cr(VI), U(VI) e Se(VI) para estados de oxidação mais insolúveis: Cr(III), U(IV) e Se elementar, respectivamente. Outros metais, como Fe(II) e Mn(II), estão sujeitos a oxidação microbiana e precipitação de óxidos insolúveis (**Figura 21**).



Figura 21 - Extensa precipitação de óxidos férricos básicos insolúveis, de cor laranja, por bactérias oxidantes de Fe(II) em uma zona de descarga de águas subterrâneas próxima a Deep River, Ontário, Canadá.

6.2 Aplicações de Precipitação Mineral Induzida por Microrganismos

A precipitação de minerais por microrganismos de águas subterrâneas pode ser aplicada de várias maneiras, dependendo principalmente da reatividade química e das propriedades físicas dos precipitados minerais. Óxidos férricos hidratados, sulfetos e minerais de carbonato são frequentemente utilizados devido à sua capacidade de imobilizar contaminantes inorgânicos por meio de reações de adsorção superficial e coprecipitação. Os minerais de carbonato também são conhecidos por serem agentes cimentantes eficazes que aderem e unem os grãos minerais não consolidados.

Como produtos da oxidação do Fe(II) bacteriano litotrófico, os óxidos férricos hidratados são reconhecidos como sólidos adsorventes potentes que têm uma alta afinidade química por íons dissolvidos (Langmuir, 1997). Esta reatividade contribui para a remoção de cátions metálicos da solução, como Sr^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e UO_2^{2+} . Os solutos aniônicos como arsenato (AsO_4^{3-}), cromato (CrO_4^{2-}), fosfato (PO_4^{3-}), e iodeto (I^-) são também adsorvidos por óxidos férricos hidratados (Katsoyiannis e Zouboulis, 2006). A distribuição ambiental onipresente de bactérias oxidantes de Fe(II) torna a precipitação bacteriogênica de óxido férrico hidratado um forte candidato à atenção natural de contaminantes inorgânicos em sistemas de águas subterrâneas.

O sulfeto é produzido como um redutor conjugado na respiração microbiana anaeróbia com o sulfato comoceptor terminal de elétrons. Isso pode desencadear supersaturação e precipitação de fases minerais de sulfeto que incorporam contaminantes como Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} e As^{3+} . A disponibilidade de matéria orgânica como doadora de elétrons para redução de sulfato bacteriano é essencial para a produção de sulfeto. Se as concentrações de matéria orgânica (ou sulfato) forem muito baixas, a bioestimulação envolvendo a injeção de um ou ambos os nutrientes limitantes pode ser usada para induzir a precipitação do mineral sulfeto.

Uma distinção importante entre aplicações de precipitação microbiana de óxidos férricos hidratados e sulfetos metálicos está relacionada às diferenças nas condições redox das águas subterrâneas. A oxidação bacteriana de Fe(II) e a precipitação de óxidos férricos hidratados requerem condições oxidantes usando oxigênio ou nitrato como aceptores de elétrons, enquanto condições redutoras são necessárias para a precipitação de sulfeto metálico por microrganismos que usam sulfato comoceptor de elétrons. Na zona redox intermediária, a produção metabólica de Fe(II) em resposta à redução microbiana de Fe(III) contribui para a transformação de óxidos férricos hidratados em minerais Fe(II)/Fe(III), conhecida como “ferrugem verde” (Figura 22). Essas fases minerais de estado de oxidação mista não apenas retêm as propriedades adsorptivas de óxidos férricos hidratados (Parmar et al., 2001; Perez et al., 2021), mas também se comportam como redutores de fase sólida para contaminantes como nitrato, cromato, selenato (SeO_4^{2-}) e tetracloreto de carbono (Erbs et al., 1999; Genin et al., 2001).

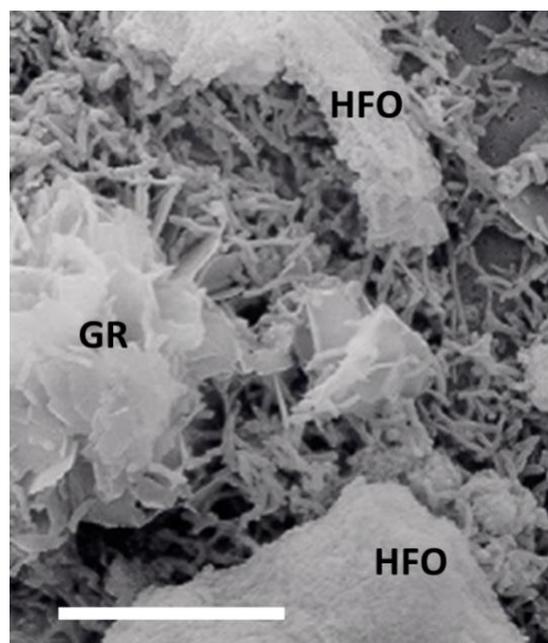


Figura 22 - Microscopia eletrônica de varredura mostrando cristais de ferrugem verde (GR, sigla em inglês) que se formaram a partir da redução de óxido férrico hidratado (HFO, sigla em inglês) em uma cultura da bactéria redutora de Fe(III) *Shewanella algae* cepa BrY. As bactérias são visíveis como uma massa desorganizada de bastonetes alongados entre os precipitados minerais. Escala da barra = 10 µm.

As aplicações de precipitação de carbonato de cálcio, induzida por microrganismos, geralmente dependem da atividade de bactérias ureolíticas (Ferris e Stehmeier, 1992; Ferris et al., 1996; Fujita et al., 2000). Ambas as espécies bacterianas aeróbias e anaeróbias catalisam a hidrólise da ureia usando a enzima urease para produzir íons de amônio e carbono inorgânico dissolvido (CID), resultando em um aumento no pH (Ferris et al., 2003). Na presença de cálcio dissolvido, que muitas vezes é injetado junto com a ureia, as maiores concentrações de CID e maiores pH levam à supersaturação e precipitação de minerais de carbonato de cálcio (**Figura 23**). Desnitrificação, amonificação, redução de sulfato e oxidação de metano também estão envolvidos na precipitação de carbonato mineral induzida por microrganismos (Anbu et al., 2016; Zhu e Dittrich, 2016; Eltarahony et al., 2020).

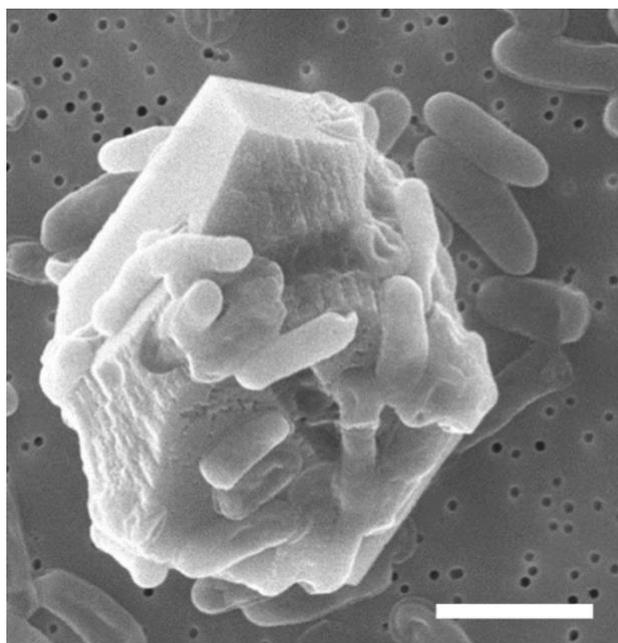


Figura 23 - Microscopia eletrônica de varredura de um cristal de calcita em crescimento, precipitado em águas subterrâneas artificiais pela bactéria ureolítica *Sporosarcina ureae*. As bactérias aparecem como células em formato bastonete que circundam e aderem à superfície do cristal de calcita. Escala da barra = 3.0 μm .

A precipitação de minerais de carbonato por microrganismos é vantajosa para a captura e imobilização de contaminantes com raio iônico semelhante ao Ca^{2+} . Esta reatividade estende-se desde a coprecipitação e substituição isomórfica de Ca^{2+} durante o crescimento do cristal (Langmuir, 1997; Mitchell e Ferris, 2005). Contaminantes de águas subterrâneas identificados como candidatos para mitigação por precipitação mineral induzida por microrganismos incluem Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} e Hg^{2+} , bem como radionuclídeos ^{90}Sr e ^{60}Co (Mitchell e Ferris 2005; Eltarahony et al., 2020).

Outro aspecto benéfico da precipitação mineral de carbonato por microrganismos é a eficácia do processo na cimentação de sedimentos não consolidados (biocimentação/bioconsolidação) e preenchimento de espaços porosos vazios (obturação/rejuntamento biomineral). As aplicações práticas em geomecânica incluem a melhoria da resistência ao cisalhamento e rigidez de depósitos soltos (não compactados) de aluvião, enquanto a redução da permeabilidade é o objetivo principal da engenharia hidrogeológica para reduzir a invasão de águas subterrâneas em túneis, operações de produção de campos petrolíferos e outras obras subterrâneas (Jack et al., 1991, 1993; Ferris e Stehmeier, 1992; Ferris et al., 1996; Anbu et al., 2016; Minto et al., 2016).

Em comparação com as argamassas tradicionais de base química, a precipitação de minerais de carbonato por microrganismos através de bioestimulação ou bioadição não só requer pressões de injeção mais baixas, mas também penetra mais profundamente em poros menores e aberturas de fratura (Minto et al., 2016). Isso ocorre porque as soluções nutritivas e mineralizantes necessárias para induzir a precipitação microbiana de minerais carbonáticos têm uma viscosidade próxima à da água (aproximadamente $1,0 \text{ mPa} \cdot \text{s}$), enquanto a viscosidade dos cimentos químicos tende a ser muito maior (aproximadamente $50 \text{ mPa} \cdot \text{s}$).

7 Conclusão

A compreensão da microbiologia e química básica apoia o trabalho dos profissionais de águas subterrâneas, porque a interação de microrganismos e compostos químicos em sistemas de fluxo de águas subterrâneas pode ser usada para modificar as condições do subsolo. Tal modificação pode mitigar a contaminação em sistemas de águas subterrâneas, aumentar ou diminuir a transmissibilidade nas águas subterrâneas e fortalecer ou enfraquecer a estrutura subterrânea. Confiar na atividade microbiana para essas modificações é geralmente uma abordagem econômica de engenharia para gerenciar a subsuperfície.

A opção mais simples e menos custosa é permitir que os processos naturais realizem o trabalho, mas quando esses processos progredem mais lentamente do que o aceitável para o problema em questão, o ritmo natural e o tipo de atividade microbiana podem ser potencializados pela adição de nutrientes ou espécies microbianas adicionais combinados com os nutrientes. A pesquisa e o conhecimento com o objetivo de melhorar as soluções baseadas na microbiologia para os problemas relacionados a águas subterrâneas é contínua, e depende de esforços para geneticamente modificar microrganismos e obter atividade catabólica incrementada (Janssen e Stucki, 2020).

8 Exercícios

Exercício 1

Qual é a diferença mais relevante entre microrganismos procariontes e eucariontes?

[Clique para acessar a resolução do exercício 1 ↴](#)

Exercício 2

Descreva as diferenças entre as paredes celulares de procariontes que se distinguem por sua resposta à coloração de Gram.

[Clique para acessar a resolução do exercício 2 ↴](#)

Exercício 3

O que é produzido pelas células de procariontes que lhes permite não apenas aderir às superfícies minerais, proteger contra a desidratação e formar biofilmes, mas também contribuir para a adsorção de substâncias químicas iônicas dissolvidas em solução?

[Clique para acessar a resolução do exercício 3 ↴](#)

Exercício 4

Qual é o tempo de duplicação para um microrganismo com uma constante de taxa de crescimento exponencial de $0,005 \text{ s}^{-1}$?

[Clique para acessar a resolução do exercício 4 ↴](#)

Exercício 5

Por que a magnitude da escala de comprimento é uma propriedade física tão importante para descrever habitats microbianos em sistemas de águas subterrâneas?

[Clique para acessar a resolução do exercício 5 ↴](#)

Exercício 6

Explique por que dois sistemas de águas subterrâneas rasas que ocorrem em climas semelhantes têm a mesma temperatura média.

[Clique para acessar a resolução do exercício 6 ↴](#)

Exercício 7

Assumindo um gradiente geotérmico de 25 a 30°C por km, como seria descrita a preferência de temperatura dos microrganismos que vivem a uma profundidade de 2000 m?

[Clique para acessar a resolução do exercício 7 ↴](#)

Exercício 8

Você pega uma amostra central de 20 m de profundidade e separa uma subamostra de 3,5 g de solo para analisar a composição da comunidade microbiana. Com base na densidade celular média em materiais de subsuperfície nesta profundidade, qual é a população aproximada de microrganismos em sua subamostra?

[Clique para acessar a resolução do exercício 8](#) ↴

Exercício 9

Coloque os seguintes aceptores terminais de elétrons para a respiração microbiana em ordem decrescente de rendimento de energia metabólica potencial. Quais são os redutores conjugados correspondentes dos aceptores de elétrons?

- a) Dióxido de carbono
- b) Sulfato
- c) Fe(III)/Mn(IV)
- d) Oxigênio
- e) Nitrato

[Clique para acessar a resolução do exercício 9](#) ↴

Exercício 10

Qual é a classificação metabólica dos microrganismos procariontes de subsuperfície que usam compostos químicos como fonte de energia, com substâncias *inorgânicas* servindo como doadoras de elétrons e dióxido de carbono sendo fixado para formar biomassa celular?

[Clique para acessar a resolução do exercício 10](#) ↴

Exercício 11

Qual é a classificação metabólica de microrganismos procariontes de subsuperfície que usam compostos químicos como fonte de energia, com substâncias *orgânicas* servindo como doadoras de elétrons e fonte de carbono para produzir biomassa celular?

[Clique para acessar a resolução do exercício 11](#) ↴

Exercício 12

Por que xisto e argila não são habitats especialmente bons para microrganismos procariontes?

[Clique para acessar a resolução do exercício 12](#) ↴

Exercício 13

Como parte de sua busca por evidências de microrganismos eucariotos e procariotos em um campo, você coleta uma amostra central de rocha carbonatada. Você esperaria encontrar os dois tipos de microrganismos alvo, apenas um tipo ou nenhum? Explique.

[Clique para acessar a resolução do exercício 13](#) ↴

Exercício 14

Descreva as maneiras pelas quais os microrganismos procariontes contribuem para as reações químicas nos sistemas de águas subterrâneas.

[Clique para acessar a resolução do exercício 14](#) ↴

Exercício 15

Explique brevemente a diferença no comportamento de sorção de pH entre íons carregados positivamente e negativamente em sólidos sorbentes em sistemas de águas subterrâneas, incluindo células microbianas procariontes cercadas por substâncias poliméricas extracelulares (EPS).

[Clique para acessar a resolução do exercício 15](#) ↴

Exercício 16

Qual o papel dos microrganismos na remoção de poluentes das águas subterrâneas?

[Clique para acessar a resolução do exercício 16](#) ↴

Exercício 17

Você está trabalhando como hidrogeólogo em um local no qual as águas subterrâneas estão contaminadas com BTEX. Solicitaram a você uma justificativa para o uso de biorremediação para remover o BTEX das águas subterrâneas e a descrição de três possíveis estratégias de biorremediação para eliminar os contaminantes alvo. Explique quais condições das águas subterrâneas melhorariam a biorremediação microbiana dos contaminantes alvo e o motivo. Suponha que microrganismos que podem biodegradar hidrocarbonetos sejam onipresentes no local.

[Clique para acessar a resolução do exercício 17](#) ↴

Exercício 18

De que forma os microrganismos de águas subterrâneas contribuem para as reações de dissolução mineral?

[Clique para acessar a resolução do exercício 18](#) ↴

Exercício 19

Explique por que as bactérias redutoras de Fe(III) e Mn(IV) dissimilatórias são importantes para a dissolução redutiva de óxidos minerais em águas subterrâneas.

[Clique para acessar a resolução do exercício 19](#) ↓

Exercício 20

Cite algumas aplicações da precipitação mineral de carbonato por microrganismos.

[Clique para acessar a resolução do exercício 20](#) ↓

9 Referências

- Allen, R.J. e B. Waclaw, 2019, Bacterial growth: a statistical physicist's guide. Reports on Progress in Physics, volume 82, número 1, 16601, [doi: 10.1088/1361-6633/aae546](https://doi.org/10.1088/1361-6633/aae546).
- Amend, J.P. e A. Teske, 2005, Expanding frontiers in deep subsurface microbiology. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, volume 219, 25 páginas, [doi: 10.1016/j.palaeo.2004.10.018](https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2004.10.018).
- Anbu, P., C.H. Kang, Y.J. Shin, e J.S. So, 2016, Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. SpringerPlus, volume 5, página 250, [doi: 10.1186/s40064-016-1869-2](https://doi.org/10.1186/s40064-016-1869-2).
- Anderson, C.R., R.E. James, E.C. Fru, C.B. Kennedy, e K. Pedersen, 2006, In situ ecological development of a bacteriogenic iron oxide-producing microbial community from a subsurface granitic rock environment. Geobiology, volume 4, edição 1, 14 páginas, [doi: 10.1111/j.1472-4669.2006.00066.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2006.00066.x).
- Bamforth, S.M. e I. Singleton, 2005, Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, volume 80, edição 7, 14 páginas, [doi: 10.1002/jctb.1276](https://doi.org/10.1002/jctb.1276).
- Bar-On, Y.M., R. Phillips, R. Milo, 2018, The biomass distribution on Earth. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, volume 115, edição 25, 6 páginas, [doi: 10.1073/pnas.1711842115](https://doi.org/10.1073/pnas.1711842115).
- Benz, S.A., P. Bayer, P. Blum, 2017, Global patterns of shallow groundwater temperatures. Environmental Research Letters, volume 12, número 3, 034005, [doi: 10.1088/1748-9326/aa5fb0](https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa5fb0).
- Bethke, C.M., R.A. Sanford, M.F. Kirk, Q. Jin, e T.M. Flynn, 2011, The thermodynamic ladder in geomicrobiology. American Journal of Science, volume 311, edição 3, 28 páginas, [doi: 10.2475/03.2011.01](https://doi.org/10.2475/03.2011.01).
- Bird, L.J., V. Bonnefoy e D.K. Newman, 2011, Bioenergetic challenges of microbial iron metabolisms. Trends in Microbiology, volume 19, edição 7, 11 páginas, [doi: 10.1016/j.tim.2011.05.001](https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.05.001).
- Bonte, M., W.F.M. Röling, E. Zaura, P.W.J.J. van der Wielen, P.J. Stuyfzand, e B.M. van Breukelen, 2013a, Impacts on shallow geothermal energy production on redox processes and microbial communities. Environmental Science and Technology, volume 47, edição 24, 9 páginas, [doi: 10.1021/es4030244](https://doi.org/10.1021/es4030244).
- Bonte, M., B.M. van Breukelen, e P.J. Stuyfzand, 2013b, Temperature-induced impacts on groundwater quality and arsenic mobility in anoxic aquifer sediments used for both drinking water and shallow geothermal energy production. Water Research, volume 47, edição 14, 13 páginas, [doi: 10.1016/j.watres.2013.05.049](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.049).
- Brun, A. e P. Engersgaard, 2002, Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes: literature review and model development. Journal of Hydrology, volume 256, 17 páginas, [doi: 10.1016/S0022-1694\(01\)00547-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(01)00547-9).

- Chandra, S., R. Sharma, K. Singh, e A. Sharma, 2013, Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. *Annals of Microbiology*, volume 63, 15 páginas, [doi: 10.1007/s13213-012-0543-3](https://doi.org/10.1007/s13213-012-0543-3).
- Chanyi, R.M. e S.F. Koval, 2014, Role of type IV pili in predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *PLoS ONE* volume 9, edição 11, página e113404, [doi: 10.1371/journal.pone.0113404](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113404).
- Chapelle, F. H., 2000, The significance of microbial processes in hydrogeology and geochemistry. *Hydrogeology Journal*, volume 8, 6 páginas, [doi: 10.1007/PL00010973](https://doi.org/10.1007/PL00010973).
- Christensen, T.H., P.L. Bjerg, e P. Kjeldsen, 2000, Natural attenuation: a feasible approach to remediation of ground water pollution at landfills? *Ground Water Monitoring and Remediation*, volume 20, número 1, 9 páginas, [doi: 10.1111/j.1745-6592.2000.tb00253.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6592.2000.tb00253.x).
- Colwell, F.S. e S. D'Hondt, 2013, Nature and extent of the deep biosphere. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, volume 75, número 1, 28 páginas, [doi: 10.2138/rmg.2013.75.17](https://doi.org/10.2138/rmg.2013.75.17).
- Edwards, B.A., V.L. Shirokova, A.M.L. Enright, e F.G. Ferris, 2018. Dependence of in situ bacterial Fe(II)-oxidation and Fe(III)-precipitation on sequential reactive transport. *Geomicrobiology Journal*, 2018, volume 35, edição 6, 8 páginas, [doi: 10.1080/01490451.2017.1394929](https://doi.org/10.1080/01490451.2017.1394929).
- Erbs, M., H.C.B. Hansen, e C.E. Olsen, 1999, Reductive dechlorination of carbon tetrachloride using Iron(II) Iron (III) hydroxy sulfate (green rust). *Environmental Science and Technology*, volume 33, número 2, 5 páginas, [doi: 10.1021/es980221t](https://doi.org/10.1021/es980221t).
- Eltarahony, M., S. Zaki, e D. Abd-El-Haleem, 2020, Aerobic and anaerobic removal of lead and mercury via calcium carbonate precipitation mediated by statistically optimized nitrate reductases. *Scientific Reports*, volume 10, número 4029, [doi: 10.1038/s41598-020-60951-1](https://doi.org/10.1038/s41598-020-60951-1).
- Emerson, D., E.J. Fleming, e J.M. McBeth, 2010, Iron-oxidizing bacteria: an environmental and genomic perspective. *Annual Reviews of Microbiology*, volume 64, 23 páginas, [doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134208](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134208).
- Enright, A.M.L. e F.G. Ferris, 2016, Bacterial Fe(II)-oxidation distinguished by long-range correlation in redox potential. *Journal of Geophysical Research – Biogeosciences*, volume 121, edição 5, 9 páginas, [doi: 10.1002/2015JG003306](https://doi.org/10.1002/2015JG003306).
- Enright, A.M.L., B.A. Edwards, e F.G. Ferris, 2019, Long range correlation in redox potential fluctuations signals energetic efficiency of bacterial Fe(II) oxidation. *Scientific Reports*, volume 9, edição 1, número 4018, [doi: 10.1038/s41598-019-40499-5](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40499-5).
- Falkowski, P.G., T. Fenchel, e E.F. Delong, 2008, The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, volume 320, edição 5879, 6 páginas, [doi: 10.1126/science.1153213](https://doi.org/10.1126/science.1153213).

- Ferris, F.G. e L.G. Stehmeier, 1992, Bacteriogenic mineral plugging. U.S. Patent Number [US5143155A](#).
- Ferris, F.G., L.G. Stehmeier, A. Kantzas, e F.M. Mourits, 1996, Bacteriogenic mineral plugging. *Journal of Canadian Petroleum Technology*, volume 35, edição 8, [doi: 10.2118/96-08-06](#).
- Ferris, F.G., R.O. Hallberg, B. Lyven, e K. Pedersen, 2000, Retention of strontium, cesium, lead, and uranium by bacterial iron oxides from a subterranean environment. *Applied Geochemistry*, volume 15, edição 7, 8 páginas, [doi: 10.1016/S0883-2927\(99\)00093-1](#).
- Ferris, F.G., V.R. Phoenix, Y. Fujita, e R.W. Smith, 2004, Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 to 20°C in artificial groundwater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, volume 68, edição 8, 10 páginas, [doi: 10.1016/S0016-7037\(03\)00503-9](#).
- Fortin, D., F.G. Ferris, e T.J. Beveridge, 1997, Surface-mediated mineral development by bacteria. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, volume 35, [doi: 10.1515/9781501509247-007](#).
- Fujita, Y., F.G. Ferris, R. D. Lawson, F. S. Colwell, e R. W. Smith, 2000, Subscribed content calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria. *Geomicrobiology Journal*, volume 17, edição 4, 14 páginas, [doi: 10.1080/782198884](#).
- Genin, J.-M., P. Refait, G. Bourrie, M. Abdelmoula, e F. Trolard, 2001, Structure and stability of the Fe(II)-Fe(III) green rust “fougerite” mineral and its potential for reducing pollutants in soil solutions. *Applied Geochemistry*, volume 16, edição 5, 12 páginas, [doi: 10.1016/S0883-2927\(00\)00043-3](#).
- Gleeson, T., K.M. Befus, S. Jasechko, E. Luijendijk, e M.B. Cardenas, 2015, The global volume and distribution of modern groundwater. *Nature Geoscience*, volume 9, 9 páginas, [doi: 10.1038/ngeo2590](#).
- Glynn, P.D. e L.N. Plummer, 2005, Geochemistry and the understanding of ground-water systems. *Hydrogeology Journal*, volume 13, 25 páginas, [doi: 10.1007/s10040-004-0429-y](#).
- Gorra, R., G. Webster, M. Martin, L. Celi, F. Mapelli, e A.J. Weightman, 2012, Dynamic microbial community associated with iron-arsenic co-precipitation products from a groundwater storage system in Bangladesh. *Microbial Ecology*, volume 64, edição 1, 16 páginas, [doi: 10.1007/s00248-012-0014-1](#).
- Groffman, A.R. e L.J. Crossey, 1999, Transient redox regimes in a shallow alluvial aquifer. *Chemical Geology*, volume 161, edição 4, 28 páginas, [doi: 10.1016/S0009-2541\(99\)00119-9](#).
- Hao, L., J. Li, A. Kappler, e M. Obst, 2013, Mapping of heavy metal ion sorption to cell-extracellular polymeric substance-mineral aggregates by using metal-selective fluorescent probes and confocal laser scanning microscopy. *Applied and*

- Environmental Microbiology, volume 79, edição 21, 11 páginas, [doi: 10.1128/aem.02454-13](https://doi.org/10.1128/aem.02454-13).
- Haritash, A.K. e C.P. Kaushik, 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. Journal of Hazardous Materials, volume 169, issues 1-3, 15 páginas, [doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.03.137](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137).
- Heim, N.A., J.L. Payne, S. Finnegan, M.L. Knope, M. Kowalewski, S.K. Lyons, D.W. McShea, P.M. Novack-Gottshall, F.A. Smith, e S.C. Wang, 2017, Hierarchical complexity and the size limits of life. Proceedings of the Royal Society B, volume 284, edição 1857, [doi: 10.1098/rspb.2017.1039](https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1039).
- Hoehler, T.M. e B.B. Jorgensen, 2013, Microbial life under extreme energy limitation. Nature Reviews Microbiology, volume 11, 12 páginas, [doi: 10.1038/nrmicro2939](https://doi.org/10.1038/nrmicro2939).
- Hopkins, G.D., L. Semprini, e P.L. McCarty, 1993, Microcosm and in situ field studies of enhanced biotransformation of trichloroethylene by phenol-utilizing microorganisms. Applied and Environmental Microbiology, volume 59, número 7, 9 páginas, [doi: 10.1128/aem.59.7.2277-2285.1993](https://doi.org/10.1128/aem.59.7.2277-2285.1993).
- Jack, T.R., L.G. Stehmeier, M.R. Islam, e F.G. Ferris, 1991, Microbial selective plugging to control water channeling. Developments in Petroleum Science, volume 31, 8 páginas, [doi: 10.1016/S0376-7361\(09\)70176-1](https://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70176-1).
- Jack, T.R., F.G. Ferris, L.G. Stehmeier, A. Kantzas, e D.F. Marentette, 1993, Bug Rock: bacteriogenic mineral precipitation systems for oil patch use. Developments in Petroleum Science, volume 39, páginas 27-35, [doi: 10.1016/S0376-7361\(09\)70047-0](https://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70047-0).
- Janssen D.B. e G. Stucki, 2020, Perspectives of genetically engineered microbes for groundwater bioremediation. Environmental Science: Processes & Impacts, volume 22, edição 3, 13 páginas, [doi: 10.1039/c9em00601j](https://doi.org/10.1039/c9em00601j).
- Jin, Y. e M. Flury, 2002, Fate and transport of viruses in porous media. Advances in Agronomy, volume 77, 64 páginas, [doi: 10.1016/S0065-2113\(02\)77013-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77013-2).
- Kallmeyer, J., R. Pockalny, R.R. Adhikari, D.C. Smith, e S. D'Hondt, 2012, Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, volume 109, número 40, 4 páginas, [doi: 10.1073/pnas.1203849109](https://doi.org/10.1073/pnas.1203849109).
- Katsoyiannis, I.A. e A.I. Zouboulis, 2006, Use of iron- and manganese-oxidizing bacteria for the combined removal of iron, manganese and arsenic from contaminated groundwater. Water Quality Research Journal of Canada, volume 41, edição 2, 13 páginas, [doi: 10.2166/wqrj.2006.014](https://doi.org/10.2166/wqrj.2006.014).
- Kennedy, C.B., A.G. Gault, I.D. Clark, D. Fortin, e F.G. Ferris, 2011, Retention of iodide by bacteriogenic iron oxides. Geomicrobiology Journal, volume 28, edição 5-6, 9 páginas, [doi: 10.1080/01490451003653110](https://doi.org/10.1080/01490451003653110).
- Kielhorn, J., C. Melber, U. Wahnschaffe, A. Aitio, e I. Mangelsdorf, 2000, Vinyl chloride: still a cause for concern. Environmental Health Perspectives, volume 108, número 7, 10 páginas, [doi: 10.1289/ehp.00108579](https://doi.org/10.1289/ehp.00108579).

- Kleanthous, C. e J.P. Armitage, 2015, The bacterial cell envelope. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, volume 370, edição 1679, [doi: 10.1098/rstb.2015.0019](https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0019).
- Konhauser, K.O., 2007, *Introduction to Geomicrobiology*, Wiley-Blackwell.
- Kulczycki, E., F.G. Ferris, e D. Fortin, 2002, Impact of cell wall structure on the behavior of bacterial cells as sorbents of cadmium and lead. *Geomicrobiology Journal*, volume 19, edição 6, 13 páginas, [doi: 10.1080/01490450290098586](https://doi.org/10.1080/01490450290098586).
- Kulczycki, E., D.A. Fowle, D. Fortin, e F.G. Ferris, 2005, Sorption of cadmium and lead by bacteria-ferrihydrite composites. *Geomicrobiology Journal*, volume 22, edição 6, 12 páginas, [doi: 10.1080/01490450500184694](https://doi.org/10.1080/01490450500184694).
- Kuma, A.R. e P. Riyazuddin, 2012, Seasonal variation of redox species and redox potentials in shallow groundwater: a comparison of measured and calculated redox potentials. *Journal of Hydrology*, volumes 444-445, 12 páginas, [doi: 10.1016/j.jhydrol.2012.04.018](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2012.04.018).
- Kump, L.R., S.R. Brantley, e M.A. Arthur, 2000, Chemical weathering, atmospheric CO₂, and climate. *Annual Review of Earth and Planetary Science*, volume 28, 7 páginas, [doi: 10.1146/annurev.earth.28.1.611](https://doi.org/10.1146/annurev.earth.28.1.611).
- Kyle, J.E., H.S.C. Eydal, F.G. Ferris, e K. Pedersen, 2008, Viruses in granitic groundwater from 69 to 450 m depth of the Aspö hard rock laboratory, Sweden. *ISME Journal*, volume 2, 4 páginas, [doi: 10.1038/ismej.2008.18](https://doi.org/10.1038/ismej.2008.18).
- Langley, S., A.G. Gault, A. Ibrahim, Y. Takahashi, R. Renaud, D. Fortin, I.D. Clark, e F.G. Ferris, 2009a, A comparison of the rates of Fe(III) reduction in synthetic and bacteriogenic iron oxides by *Shewanella putrefaciens* CN32. *Geomicrobiology Journal*, volume 26, edição 2, 14 páginas, [doi: 10.1080/01490450802674905](https://doi.org/10.1080/01490450802674905).
- Langley, S., A.G. Gault, A. Ibrahim, Y. Takahashi, R. Renaud, D. Fortin, I.D. Clark, e F.G. Ferris, 2009b, Strontium de-sorption from bacteriogenic iron oxides (BIOS) subjected to microbial Fe(III) reduction. *Chemical Geology*, volume 262, edição 3-4, 11 páginas, [doi: 10.1016/j.chemgeo.2009.01.019](https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.01.019).
- Langmuir, D., 1997, *Aqueous Environmental Geochemistry*. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- LaRowe, D.E. e J.P. Amend, 2015, Catabolic rates, population sizes and doubling/replacement times of microorganisms in the natural settings. *American Journal of Science*, volume 315, edição 3, 37 páginas, [doi: 10.2475/03.2015.01](https://doi.org/10.2475/03.2015.01).
- LaRowe, D.E. e J.P. Amend, 2019, Energy limits for life in the subsurface. *Deep carbon: past to present*. B. Orcutt, I. Daniel, R. Dasgupta (editors), Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, 35 páginas.
- Liebensteiner, M.G., N. Tsesmetzis, A.J.M. Stams, e B.P. Lomans, 2014, Microbial redox processes in deep subsurface environments and the potential application of (per)chlorate in oil reservoirs. *Frontiers in Microbiology*, volume 5, página 428, [doi: 10.3389/fmicb.2014.00428](https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00428).

- Lin, D., E.I. Larsen, G.R. Larsen, M.E. Cox, e J.E. Smith, 2012, Bacterially mediated iron cycling and associated biogeochemical processes in a subtropical shallow coastal aquifer: implications for groundwater quality. *Hydrobiologia*, volume 696, edição 1, 14 páginas, [doi: 10.1007/s10750-012-1184-z](https://doi.org/10.1007/s10750-012-1184-z).
- Lindberg, R.D. e D.D. Runnells, 1984, Ground water redox reactions: and analysis of equilibrium state applied to *Eh* measurements and geochemical modeling. *Science*, volume 225, 3 páginas, [doi: 10.1126/science.225.4665.925](https://doi.org/10.1126/science.225.4665.925).
- Locey, K.J. e J.T. Lennon, 2016, Scaling laws predict global microbial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, volume 113, 6 páginas, [doi: 10.1073/pnas.1521291113](https://doi.org/10.1073/pnas.1521291113).
- Louca, S., F. Mazel, M. Doebeli, e L.W. Parfrey, 2019, A census-based estimate of Earth's bacterial and archaeal diversity. *PLOS Biology*, volume 17, página e3000106, [doi: 10.1371/journal.pbio.3000106](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000106).
- Lovley, D.R. e J.D. Coates, 1997, Bioremediation of metal contamination. *Current Opinion In Biotechnology*, volume 8, edição 3, 5 páginas, [doi: 10.1016/s0958-1669\(97\)80005-5](https://doi.org/10.1016/s0958-1669(97)80005-5).
- Macler, B.A. e J.C. Merkle, 2000, Current knowledge on groundwater microbial pathogens and their control. *Hydrogeology Journal*, volume 8, número 1, 12 páginas, [doi: 10.1007/PL00010972](https://doi.org/10.1007/PL00010972).
- Magnabosco, C., L.H. Lin, H. Dong, M. Bomberg, W. Ghirso, H. Stan-Lotter, K. Pedersen, T.L. Kieft, E. van Heerden, e T.C. Onstott, 2018, The biomass and biodiversity of the continental subsurface. *Nature Geoscience*, volume 11, 11 páginas, [doi: 10.1038/s41561-018-0221-6](https://doi.org/10.1038/s41561-018-0221-6).
- Marshall, K.C., 2013, Planktonic versus sessile life of prokaryotes. *The Prokaryotes – Prokaryotic Communities and Ecophysiology*, E. Rosenberg et al. (editors), Springer-Verlag, Berlin, [doi: 10.1007/978-3-642-30123-0_49](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0_49).
- Martinez, R.E. e F.G. Ferris, 2001, Chemical equilibrium modeling techniques for the analysis of high-resolution bacterial metal sorption data. *Journal of Colloid and Interface Science*, volume 243, edição 1, 8 páginas, [doi: 10.1006/jcis.2001.7865](https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7865).
- McDougald, D., S.A. Rice, N. Barraud, P.D. Steinberg, e S. Kjelleberg, 2012, Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*, volume 10, 12 páginas, [doi: 10.1038/nrmicro2695](https://doi.org/10.1038/nrmicro2695).
- McKay, L., J.A. Cherry, R.C. Bales, M.T. Yahya, e C.P. Gerba, 1993, A field example of bacteriophage as tracers of fracture flow. *Environmental Science and Technology*, volume 27, edição 6, 5 páginas, [doi: 10.1021/es00043a006](https://doi.org/10.1021/es00043a006).
- McMahon, P.B. e F.H. Chapelle, 2008, Redox processes and water quality of selected principal aquifer systems. *Groundwater*, volume 46, edição 2, 13 páginas, [doi: 10.1111/j.1745-6584.2007.00385.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2007.00385.x).
- Meckenstock, R.U. et al., 2015, Biodegradation: updating the concepts of control for microbial cleanup in contaminated aquifers. *Environmental Science and Technology*, volume 49, edição 12, 9 páginas, [doi: 10.1021/acs.est.5b00715](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00715).

- Meckenstock, R.U. et al., 2016, Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, volume 26, issues 1-3, 27 páginas, [doi: 10.1159/000441358](https://doi.org/10.1159/000441358).
- Menberg, K., P. Blum, B.L. Kuryluk, e P. Bayer, 2014, Observed groundwater temperature response to recent climate change. *Hydrology and Earth System Sciences*, volume 18, edição 11, 14 páginas, [doi: 10.5194/hess-18-4453-2014](https://doi.org/10.5194/hess-18-4453-2014).
- Minto, J.M., E. MacLachlan, G. El Mountassir, e R.J. Lunn, 2016, Rock fracture grouting with microbially induced carbonate precipitation. *Water Resources Research*, volume 52, edição 11, 18 páginas, [doi: 10.1002/2016WR018884](https://doi.org/10.1002/2016WR018884).
- Mitchell, A.C. e F.G. Ferris, 2005, The co-precipitation of Sr into calcite precipitates induced by bacterial ureolysis in artificial groundwater: temperature and kinetic dependence. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, volume 69, edição 17, 12 páginas, [doi: 10.1016/j.gca.2005.03.014](https://doi.org/10.1016/j.gca.2005.03.014).
- Mohn, W.W. e J.M. Tiedje, 1992, Microbial reductive dehalogenation. *Microbiological Reviews*, volume 56, edição 3, 26 páginas, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372880/>.
- Mora, C., D.P. Tittensor, S. Adl, A.G.B. Simpson, e B. Worm, 2011, How many species are there on Earth and in the ocean? *PLOS Biology*, volume 9, edição 8, página e1001127, [doi: 10.1371/journal.pbio.1001127](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127).
- Pandey, P.K., P.H. Kass, M.L. Soupir, S. Biswas, e V.P. Singh, 2014, Contamination of water resources by pathogenic bacteria. *AMB Express*, volume 4, página 51, [doi: 10.1186%2Fs13568-014-0051-x](https://doi.org/10.1186%2Fs13568-014-0051-x).
- Pang, L., M. Close, M. Goltz, L. Sinton, H. Davies, C. Hall, e G. Stanton, 2004, Estimation of septic tank setback distances based on transport of *E. coli* and F-RNA phages. *Environment International*, volume 29, edição 7, 15 páginas, [doi: 10.1016/S0160-4120\(03\)00054-0](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00054-0).
- Parmar, N., Y.A. Gorby, T.J. Beveridge, e F.G. Ferris, 2001, Formation of green rust and immobilization of nickel in response to bacterial reduction of hydrous ferric oxide. *Geomicrobiology Journal*, volume 18, edição 4, 11 páginas, [doi: 10.1080/014904501753210549](https://doi.org/10.1080/014904501753210549).
- Perez, J.P.H., A.A. Schiefler, S.N. Rubio, M. Reischer, N.D. Overheu, L.G. Benning, e D.J. Tobler, 2021, Arsenic removal from natural groundwater using 'green rust': solid phase stability and contaminant fate. *Journal of Hazardous Materials*, volume 401, página 123327, [doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123327](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123327).
- Phoenix, V.R., A.A. Korenevsky, F.G. Ferris, Y.A. Gorby, e T.J. Beveridge, 2007, Influence of lipopolysaccharide on the surface proton-binding behavior of *shewanella spp.* *Current Microbiology*, volume 55, 6 páginas, [doi: 10.1007/s00284-007-0077-2](https://doi.org/10.1007/s00284-007-0077-2).
- Rebata-Landa, V. e J.C. Santamarina, 2006, Mechanical limits to microbial activity in deep sediments. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, volume 71, [doi: 10.1029/2006GC001355](https://doi.org/10.1029/2006GC001355).

- Roden, E.E., D. Sobolev, B. Glazer, e G.W. Luther III, 2004, Potential for microscale bacterial Fe redox cycling at the aerobic-anaerobic interface. *Geomicrobiology Journal*, volume 21, edição 6, 13 páginas, [doi: 10.1080/01490450490485872](https://doi.org/10.1080/01490450490485872).
- Schwarz, M., F. Giadrossich, P. Lüscher, e P.F. Germann, 2018, Subsurface hydrological connectivity of vegetated slopes: a new modeling approach. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, [doi: 10.5194/hess-2017-761](https://doi.org/10.5194/hess-2017-761).
- Semprini, L., P.V. Roberts, G.D. Hopkins, e P.L. McCarty, 1990. A field evaluation of in-situ biodegradation of chlorinated ethenes, part 2, the results of biostimulation and biotransformation experiments. *Ground Water*, volume 28, 13 páginas, [doi: 10.1111/j.1745-6584.1990.tb01987.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1990.tb01987.x).
- Semprini, L. e P.L. McCarty, 1991, Comparison between model simulations and field results for in-situ bioremediation of chlorinated aliphatics, part 1, biostimulation of methanotrophic bacteria. *Groundwater*, volume 29, edição 3, 10 páginas, [doi: 10.1111/j.1745-6584.1991.tb00527.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1991.tb00527.x).
- Shelobolina, E., H. Xu, H. Konishi, R. Kukkadapu, T. Wu, M. Blöthe, e E.E. Roden, 2012, Microbial lithotrophic oxidation of structural Fe(II) in biotite. *Applied and Environmental Microbiology*, volume 78, edição 16, 179 páginas, [doi: 10.1128/aem.01034-12](https://doi.org/10.1128/aem.01034-12).
- Shen, Y., F.H. Chapelle, E.W. Strom, e R. Benner, 2015, Origins and bioavailability of dissolved organic matter in groundwater. *Biogeochemistry*, volume 122, 18 páginas, [doi: 10.1007/s10533-014-0029-4](https://doi.org/10.1007/s10533-014-0029-4).
- Shirokova, V.L. e F.G. Ferris, 2013, Microbial diversity and biogeochemistry of a shallow pristine Canadian Shield groundwater system. *Geomicrobiology Journal*, volume 30, 10 páginas, [doi: 10.1080/01490451.2011.654378](https://doi.org/10.1080/01490451.2011.654378).
- Shirokova, V.L., A.M.L. Enright, C.B. Kennedy, e F.G. Ferris, 2016, Thermal intensification of microbial Fe(II)/Fe(III) redox cycling in a pristine shallow sand aquifer on the Canadian Shield. *Water Research*, volume 106, 9 páginas, [doi: 10.1016/j.watres.2016.10.050](https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.050).
- Shoemaker, W.B., K.J. Cunningham, E.L. Kuniansky, e J. Dixon, 2008, Effects of turbulence on hydraulic heads and parameter sensitivities in preferential groundwater flow layers. *Water Resources Research*, volume 44, edição 3, página W03501, [doi: 10.1029/2007WR006601](https://doi.org/10.1029/2007WR006601).
- Small, T.D., L.A. Warren, e F.G. Ferris, 2001, Influence of ionic strength on strontium sorption to bacteria, Fe(III)-oxide, and composite bacteria-Fe(III) oxide surfaces. *Applied Geochemistry*, volume 16, edição 7-8, 8 páginas, [doi: 10.1016/S0883-2927\(00\)00065-2](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(00)00065-2).
- Smith, D.S. e F.G. Ferris, 2001, Computational and experimental approaches to studying metal interactions with microbial biofilms. *Methods in Enzymology*, volume 337, 18 páginas, [doi: 10.1016/S0076-6879\(01\)37017-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(01)37017-9).

- Sokolov, I., D.S. Smith, G.S. Henderson, Y.A. Gorby, e F.G. Ferris, 2001, Cell surface electrochemical heterogeneity of the Fe(III)-reducing bacteria *Shewanella putrefaciens*. *Environmental Science and Technology*, volume 35, edição 2, 7 páginas, [doi: 10.1021/es001258s](https://doi.org/10.1021/es001258s).
- Steeffel, C.I., D.J. DePaolo, e P.C. Lichtner, 2005, Reactive transport modeling: an essential tool and a new research approach for the Earth sciences. *Earth and Planetary Science Letters*, volume 240, issues 3-4, 20 páginas, [doi: 10.1016/j.epsl.2005.09.017](https://doi.org/10.1016/j.epsl.2005.09.017).
- Stolper, D.A., N.P. Revsbech, e D.E. Canfield, 2010, Aerobic growth at nanomolar oxygen concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, volume 107, edição 44, 6 páginas, [doi: 10.1073/pnas.1013435107](https://doi.org/10.1073/pnas.1013435107).
- Stumm, W. e J.J. Morgan, 1995, *Aquatic chemistry*. Wiley, New York.
- Taylor, R., A. Cronin, S. Pedley, J. Barker, e T. Atkinson, 2004, The implications of groundwater velocity variations on microbial transport and wellhead protection – review of field evidence. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, volume 49, edição 1, 10 páginas, [doi: 10.1016/j.femsec.2004.02.018](https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.02.018).
- Taylor, C.A. e H.G. Stefan, 2009, Shallow groundwater temperature response to climate change and urbanization. *Journal of Hydrology*, volume 375, issues 3-4, 12 páginas, [doi: 10.1016/j.jhydrol.2009.07.009](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.07.009).
- Tesoriero, A.J., S. Terziotti, e D.B. Abrams, 2015, Predicting redox conditions in groundwater at a regional scale. *Environmental Science and Technology*, volume 49, edição 16, 8 páginas, [doi: 10.1021/acs.est.5b01869](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01869).
- Tufenkji, N., 2007, Modeling microbial transport in porous media: traditional approaches and recent developments. *Advances in Water Resources*, volume 30, issues 6-7, 15 páginas, [doi: 10.1016/j.advwatres.2006.05.014](https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2006.05.014).
- USEPA, 1998, Technical protocol for evaluating natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater, [EPA/600/R-98/128](https://www.epa.gov/600/R-98/128), Washington D.C.
- USEPA, 2002, Onsite wastewater treatment systems manual systems, [EPA/625/R-00/008](https://www.epa.gov/625/R-00/008).
- USEPA, 2013, Introduction to in situ bioremediation of groundwater. Office of Solid Waste and Energy Response, Division of Solid Waste and Energy Response, [EPA/542-R-13-018](https://www.epa.gov/542-R-13-018).
- Varjani, S. J. e V. N. Upasani, 2017, A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, volume 120, 13 páginas, [doi: 10.1016/j.ibiod.2017.02.006](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006).
- Wang, F., A.M. Burrage, S. Postel, R.E. Clark, A. Orlova, E.J. Sundberg, D.B. Kearns, e E.H. Egelman, 2017, A structural model of flagellar filament switching across multiple bacterial species. *Nature Communications*, volume 8, página 960, [doi: 10.1038/s41467-017-01075-5](https://doi.org/10.1038/s41467-017-01075-5).

- Warren, L.A. e F.G. Ferris, 1998, Continuum between sorption and precipitation of Fe(III) on bacterial cell surfaces. *Environmental Science and Technology*, volume 32, edição 15, 7 páginas, [doi: 10.1021/es9800481](https://doi.org/10.1021/es9800481).
- Wilson, M.J., 2004, Weathering of the primary rock-forming minerals: processes, products, and rates. *Clay Minerals*, volume 39, edição 3, 34 páginas, [doi: 10.1180/0009855043930133](https://doi.org/10.1180/0009855043930133).
- Zhu, T. e M. Dittrich, 2016, Carbonate precipitation through microbial activities in natural environment, and their potential in biotechnology: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, volume 4, página 4, [doi: 10.3389/fbioe.2016.00004](https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00004).
- Zobell, C.E., 1946, Studies on redox potential of marine sediments. *American Association of Petroleum Geologists Bulletin*, volume 30, edição 4, 37 páginas, [doi: 10.1306/3D933808-16B1-11D7-8645000102C1865D](https://doi.org/10.1306/3D933808-16B1-11D7-8645000102C1865D).

10 Resolução dos Exercícios

Resolução do Exercício 1

Microrganismos procariontes não possuem núcleos membranosos, enquanto os eucariotos possuem núcleos ligados a membranas.

[Retornar para o Exercício 1](#) ↑

Resolução do Exercício 2

As paredes celulares dos procariontes com coloração Gram-positiva consistem em peptidoglicano, que é uma rede de mucopolissacarídeos reticulados em três dimensões por pontes peptídicas, e uma variedade de polímeros secundários (ácidos teicóicos ou teicurônicos e proteínas). Por outro lado, as paredes celulares dos procariontes que se coram como Gram-negativas contêm lipopolissacarídeos, fosfolipídios e proteínas dispostas em uma bicamada de membrana (a membrana externa). Colada entre a membrana externa e a membrana citoplasmática está uma fina camada de peptidoglicano.

Bônus - Algumas bactérias com paredes celulares não são Gram-positivas nem Gram-negativas, de acordo com a coloração de Gram. As paredes celulares de *Archaea* não possuem o tipo de peptidoglicano encontrado em procariontes, em vez disso contêm pseudo-peptidoglicano, glicoproteínas ou proteínas isoladas.

[Retornar para o Exercício 2](#) ↑

Resolução do Exercício 3

Substâncias poliméricas extracelulares (EPS, sigla em inglês).

[Retornar para o Exercício 3](#) ↑

Resolução do Exercício 4

O tempo de duplicação para o crescimento microbiano exponencial é dado pela equação $T = \ln(2)/\mu = 0,693/\mu$, na qual a frequência de divisão celular é especificada pela constante da taxa de crescimento exponencial μ . Isso resulta em um tempo de duplicação de 138,6 s, o que equivale a 2,3 min.

[Retornar para o Exercício 4](#) ↑

Resolução do Exercício 5

Nos sistemas de águas subterrâneas, as escalas de comprimento se estendem por grandes distâncias, de 10^3 m (km) até os níveis de 10^{-6} m (μm), dependendo de como o tamanho do habitat é definido. A escala de comprimento é crítica porque define outras propriedades físicas importantes para a habitabilidade, como áreas de superfície e volumes relativos de sólidos, água, ar e outros fluidos. Esses fatores não apenas determinam onde é

possível que a vida microbiana se refugie, mas também influenciam o movimento da água, a química das águas subterrâneas e os processos de transporte de massa reativos.

[Retornar para o Exercício 5 ↑](#)

Resolução do Exercício 6

Estando abaixo da superfície, as águas subterrâneas são isoladas dos ciclos diários de irradiação solar e das mudanças climáticas sazonais acima do solo. As propriedades isolantes do material subterrâneo e a alta capacidade de calor específico da água resultam em águas subterrâneas rasas mantendo uma temperatura razoavelmente constante, aproximadamente igual à temperatura média anual do ar do local. As águas subterrâneas mais profundas são aquecidas pelo gradiente geotérmico da região.

[Retornar para o Exercício 6 ↑](#)

Resolução do Exercício 7

A temperatura esperada em um sistema de águas subterrâneas a 2000 m de profundidade seria em torno de 50 a 60°C mais alta do que a temperatura na superfície, que é em média cerca de 15°C; esse valor corresponde à faixa de temperatura dos microrganismos termofílicos.

[Retornar para o Exercício 7 ↑](#)

Resolução do Exercício 8

Aproximadamente 35 milhões de células. Em sistemas de águas subterrâneas próximas à superfície, o número de células microbianas procariontes é em média de 10^7 células/g. Portanto, uma amostra de 3,5 g conteria 10^7 células/g \times 3,5 g = $3,5 \times 10^7$ (35 milhões) células.

[Retornar para o Exercício 8 ↑](#)

Resolução do Exercício 9

1. Oxigênio – água
2. Nitrato – nitrogênio
3. Fe(III)/Mn(IV) – Fe(II)/Mn(II)
4. Sulfato – sulfeto
5. Dióxido de carbono – metano

[Retornar para o Exercício 9 ↑](#)

Resolução do Exercício 10

Os autótrofos dependem de compostos químicos de substâncias inorgânicas (isto é, líticas) como fonte de energia para redução de dióxido de carbono, por isso são classificados como quimiolitototróficos.

[Retornar para o Exercício 10](#) ↑

Resolução do Exercício 11

Heterotróficos (muitas vezes sinônimo de organotróficos) dependem de moléculas orgânicas que já existem no sistema para promover seu crescimento, por isso são classificados como quimioorganoheterotróficos.

[Retornar para o Exercício 11](#) ↑

Resolução do Exercício 12

Os diâmetros do tamanho dos poros em xistos e argilas (tipicamente $< 10^{-7}$ m) são muito pequenos para fornecer espaço suficiente para acomodar microrganismos procariontes com diâmetros celulares maiores que 10^{-7} m.

[Retornar para o Exercício 12](#) ↑

Resolução do Exercício 13

Apenas um (procariontes). A vida no subsolo é limitada pelo diâmetro dos poros. O tamanho menor dos procariontes permite que eles vivam dentro de poros das rochas carbonato.

[Retornar para o Exercício 13](#) ↑

Resolução do Exercício 14

Microrganismos procariontes contribuem para reações químicas em sistemas de águas subterrâneas de duas maneiras. Primeiro, a atividade enzimática metabólica pode acelerar (catalisar) reações lentas e forçar os quocientes de reação correspondentes a se deslocarem rapidamente para o equilíbrio ou para longe dele. Isso afeta muitos aspectos da química das águas subterrâneas, incluindo pH, condições redox, processos de dissolução e precipitação de minerais e a especiação química de solutos. Em segundo lugar, as células de procariontes se comportam como sólidos reativos microscópicos devido à reatividade química de grupos funcionais, como substituintes carboxila ou fosforil, nos componentes macromoleculares das paredes celulares, bainhas externas e EPS. Como sólidos reativos, as bactérias não apenas contribuem para a sorção de íons dissolvidos, mas também servem como modelos de nucleação heterogêneos para precipitação mineral.

[Retornar para o Exercício 14](#) ↑

Resolução do Exercício 15

A medida que o pH aumenta, os sólidos sorbentes tendem a desenvolver uma carga superficial mais negativa, que favorece a sorção de cátions aumentada (com carga positiva) e a sorção de ânions diminuída (com carga negativa).

[Retornar para o Exercício 15 ↑](#)

Resolução do Exercício 16

Os microrganismos são usados para remover os poluentes das águas subterrâneas em processos conhecidos como *biorremediação*. A biorremediação usa microrganismos para reduzir a poluição por meio da transformação biológica de poluentes (por exemplo, hidrocarbonetos de petróleo e compostos clorados) em substâncias não tóxicas ou menos tóxicas. Os poluentes podem atuar como doadores de elétrons (por exemplo, BTEX) ou aceptores de elétrons (por exemplo, TCE) no metabolismo microbiano.

[Retornar para o Exercício 16 ↑](#)

Resolução do Exercício 17

Justificativa: Os microrganismos podem usar compostos BTEX como doadores de elétrons em seu metabolismo. Enquanto houver nutrientes disponíveis e aceptores de elétrons nas águas subterrâneas, os microrganismos podem metabolizar e, portanto, degradar os contaminantes alvo.

Três estratégias possíveis:

1. atenuação natural - a comunidade microbiana natural é deixada para eliminar o contaminante alvo sem intervenção humana;
2. bioestimulação - nutrientes essenciais são adicionados para estimular a comunidade microbiana natural a eliminar o contaminante alvo; e
3. bioadição - nutrientes e cepas selecionadas de bactérias são injetadas no subsolo para promover a eliminação do contaminante alvo.

Entre os aceptores de elétrons comumente disponíveis, o oxigênio produz mais energia do que qualquer outro oxidante na respiração aeróbia. Para aumentar a degradação microbiana dos compostos BTEX, você pode aumentar a disponibilidade de oxigênio nas águas subterrâneas. O oxigênio pode ser adicionado à água subterrânea diretamente no subsolo por pulverização de ar ou por meio da injeção de um oxidante químico (por exemplo, peróxido de hidrogênio) que se decompõe para liberar oxigênio.

[Retornar para o Exercício 17 ↑](#)

Resolução do Exercício 18

Os processos de dissolução mineral tendem a consumir prótons como reagentes, o que força a liberação de cátions sorvidos em solução para conservar a eletroneutralidade.

A fonte mais comum de prótons nas reações de dissolução mineral é o ácido carbônico, que é gerado a partir da degradação da matéria orgânica pela atividade microbiana heterotrófica. Outros ácidos inorgânicos e orgânicos também são produzidos por microrganismos. Estes incluem ácido sulfúrico da oxidação de minerais de sulfeto, bem como uma ampla variedade de ácidos carboxílicos, como ácido acético e ácido oxálico.

[Retornar para o Exercício 18](#) ↑

Resolução do Exercício 19

Óxidos de ferro hidratado e manganês são utilizados por bactérias redutoras de Fe(III) e Mn(IV) dissimilatórias como aceptores de elétrons de fase sólida para respiração anaeróbia. Esses minerais de óxido normalmente ocorrem como revestimentos finos em outros grãos minerais, bem como em materiais orgânicos particulados. A dissolução desses revestimentos por redução microbiana sob condições de baixo oxigênio frequentemente resulta em uma coloração típica denominada *gleyic* (cinza-azul-verde), evidente em amostras de cascalhos e de zonas de redução de Mn(IV) e Fe(III) em sistemas de águas subterrâneas.

[Retornar para o Exercício 19](#) ↑

Resolução do Exercício 20

A precipitação mineral de carbonato por microrganismos pode ser usada na cimentação de sedimentos não consolidados e no preenchimento de espaços porosos vazios para melhorar a resistência ao cisalhamento e a rigidez de depósitos soltos e/ou reduzir a permeabilidade para controlar o fluxo de águas subterrâneas.

[Retornar para o Exercício 20](#) ↑

11 Sobre os Autores



F. Grant Ferris é professor do Departamento de Ciências da Terra da Universidade de Toronto. Nos últimos 30 anos, ele vem unindo os mundos da pesquisa em geoquímica microbiana e aplicações industriais. Com um treinamento básico em microbiologia obtido durante sua graduação e doutorado na Universidade de Guelph, Grant completou seu pós-doutorado com uma bolsa de estudos da Administração Nacional do Espaço e da Aeronáutica (NASA) na Instituição de Oceanografia Scripps, na Califórnia, e uma bolsa de pós-doutorado do Conselho de Pesquisas em Engenharia e Ciências Naturais, na Universidade de Western, em Ontário. Após seus pós-doutoramentos, Grant ingressou no setor privado, onde trabalhou na indústria de petróleo e gás em corrosão de dutos, recuperação aprimorada de petróleo e limpeza de resíduos de refinarias. Durante este tempo, ele projetou e patenteou um processo de tamponamento biomineral para reduzir a porosidade e a permeabilidade de formações geológicas subsuperficiais. Após vários anos trabalhando na indústria, Grant ingressou na Universidade de Toronto e estabeleceu um dos primeiros laboratórios de geoquímica microbiana no Canadá.

Ao longo de sua carreira, Grant contribuiu com um imenso conhecimento para a área de geoquímica microbiana. Seu grupo de pesquisa explorou alguns dos ambientes mais remotos e inacessíveis da Terra. Os locais de estudo variam desde a alta altitude do deserto de Atacama, no Chile, até as profundezas abissais do Oceano Pacífico Norte; campos hidrotermais no Parque Nacional de Yellowstone até gêiseres na Islândia e Nova Zelândia; instalações subterrâneas de eliminação de resíduos nucleares na Suécia até lagos alcalinos salinos efêmeros na Colúmbia Britânica; e as águas vermelho-sangue do Rio Tinto, na Espanha, até a Ilha Ellesmere, no Alto Ártico canadense. Grant também atuou como editor de várias revistas científicas de renome mundial e ocupou cargos executivos na Sociedade Americana de Microbiologia e na Sociedade Internacional de Biogeoquímica Ambiental. Ele foi o único não americano no Conselho de Estudos Espaciais do Comitê da Academia Nacional de Ciências (EUA) sobre Avaliação de Requisitos de Proteção Planetária para Missões de Retorno de Amostras de Marte e um dos primeiros membros do Grupo de Trabalho de Astrobiologia da Agência Espacial Canadense.

A contribuição de Grant para o campo científico é complementada por sua dedicação ao ensino e orientação de alunos e pós-doutorandos. Reconhecendo as contribuições de Grant, em 2012, ele foi introduzido na *Royal Society of Canada*.



Natalie Szponar é uma cientista ambiental multidisciplinar que usa ferramentas microbianas, geoquímicas e hidrogeológicas para entender diferentes processos geológicos e ambientais. Natalie realizou seu bacharelado em geoquímica aquosa na Universidade McMaster, e seu mestrado foi em geoquímica de isótopos estáveis na Universidade Memorial de Newfoundland. Para

sua pesquisa de pós-graduação, ela estudou o papel dos microrganismos na ciclagem do carbono em ambientes aquosos contaminados. Na Universidade Memorial, ela também fez um estágio no Grupo de Trabalho de Astrobiologia da Agência Espacial Canadense, trabalhando para entender o potencial de suporte à vida de planetas não terrestres. Após concluir o mestrado, Natalie começou a trabalhar como hidrogeóloga e consultora ambiental do setor privado onde permaneceu por mais de nove anos. Como parte de seu trabalho de consultoria, Natalie viajou pelo Canadá para trabalhar em vários programas de avaliação e remediação ambiental. Em 2016, ela retornou à academia para obter um doutorado em Ciências da Terra, juntando-se ao Grupo de Laboratórios de Metais e Isótopos de Metal da Universidade de Toronto. Durante seus estudos de doutorado, Natalie trabalhou em grande parte no Peru, desenvolvendo capacidade de pesquisa e amostragem em áreas impactadas pela mineração de ouro artesanal em pequena escala e auxiliando nos esforços do Peru para entender os efeitos dessas operações de mineração no meio ambiente.



Brock A. Edwards é estudante de doutorado na Universidade de Manitoba, pesquisando o papel das emissões de gases vulcânicos no ciclo global do mercúrio. Junto com colegas do Escritório Meteorológico da Islândia e da Universidade da Islândia, ele estudou recentemente as emissões iniciais de mercúrio e outros gases da erupção do Fagradalsfjall no sudoeste da Islândia. Sua pesquisa anterior como estudante de graduação e mestrado na Universidade de Toronto focou na ciclagem biogeoquímica do ferro em ambientes de água doce e na influência de microrganismos na qualidade da água e na mobilidade de contaminantes.

12 Sobre as Tradutoras



Pessoas na foto, da esquerda para a direita: Helen Treichel, Aline Frumi Camargo, Thamarys Scapini e Natalia Klanovicz.



Helen Treichel é Professora e Pesquisadora na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) - Campus Erechim, Rio Grande do Sul, Brasil. É bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1C. Atua nos cursos de graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária e Agronomia e é Docente Permanente nos Programas de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (UFFS-Campus Erechim), Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFFS-Campus Laranjeiras do Sul) e Biotecnologia e Biociências (UFSC).

A Profa. Dra. Helen possui fator h 33 na base de dados Web of Science, é membro do corpo editorial de 6 periódicos internacionais, e já publicou mais de 250 artigos em periódicos internacionais, 7 livros, 58 capítulos de livros, mais de 400 trabalhos em Anais de eventos e 3 patentes. Atua como líder do grupo de pesquisa em Agroenergia e coordena o Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos (LAMIBI, UFFS-Campus Erechim).

Possui ampla experiência na área de Bioprocessos e Microbiologia, atuando principalmente nos seguintes temas: Engenharia Bioquímica; Processos Bioquímicos; Desenho de Experimentos e Otimização de Processos; Produção, Purificação, Imobilização e Aplicação de Enzimas; Pré-tratamento e Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais; Processos Fermentativos; Biomassa, Bioenergia e Biocombustíveis.



Natalia Klanovicz é aluna de Doutorado Direto e Pesquisadora no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EPUSP, São Paulo, SP) desde 2020, e graduou-se em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS, Erechim, RS) em 2019. Durante sua graduação, participou de projetos de Iniciação Científica na temática de microbiologia e processos enzimáticos (de 2016 a 2019), e esteve estagiando na EMBRAPA Suínos e Aves (Concórdia, SC) por 3 meses,

atuando em projetos de digestão anaeróbia para produção de biogás e biorremediação de digestato por microalgas e por processo Anammox. Atualmente, a doutoranda Natalia participa de projetos P,D&I no Grupo de Pesquisa em Processos Oxidativos Avançados (AdOx - EPUSP) e no Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos (LAMIBI - UFFS).

Possui fator h 3 na base de dados Web of Science, é revisora de 3 periódicos internacionais (*Preparative Biochemistry & Biotechnology*, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* e *Reviews in Chemical Engineering*), e já publicou 9 artigos em periódicos internacionais, 10 capítulos de livros e 26 trabalhos em Anais de eventos nacionais e internacionais. Suas principais temáticas e interesses de pesquisa são: Planejamento e otimização de (bio)processos; Remoção de poluentes emergentes de águas residuais; Avaliação toxicológica de águas residuais; Desenvolvimento de sistemas híbridos em escoamento contínuo; Processos biooxidativos avançados; Estudo de reatores enzimáticos; Processos *downstream* para enzimas não comerciais; Concepção de (bio)processos e (bio)produtos no contexto de economia circular.



Aline Frumi Camargo é graduada em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS, Erechim, RS), onde participou de projetos de Iniciação Científica na área de Microbiologia e Bioprocessos (bolsista CNPq e FAPERGS) de 2014 a 2018. Possui ampla experiência na área de Bioprocessos e Microbiologia; Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos; Produção, Purificação, Imobilização e Aplicação de Enzimas; Tratamento de Efluentes; Isolamento de Microrganismos; Processos Fermentativos; e Produção de bioherbicidas visando a

redução no uso de herbicidas químicos. É Mestra em Ciência e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal da Fronteira Sul (Erechim, RS), programa no qual atuou como bolsista do programa CAPES e desenvolveu sua dissertação na área de análise do potencial bioherbicida de fungos selvagens cultivados em biomassa microalgal. Atualmente é

doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Biociências na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC, Florianópolis, SC), atuando como bolsista na área de prospecção e desenvolvimento de bioprodutos, estudando mais especificamente a formulação de um bioherbicida em um contexto de economia circular, utilizando isolados fúngicos e biomassa de microalgas cultivadas em digestato da produção de biogás como substrato. A doutoranda Aline possui fator h 8 na base de dados Web of Science, tendo publicado mais de 30 artigos em periódicos internacionais, 1 livro, 30 capítulos de livros e mais de 50 trabalhos em Anais de eventos.



Thamarys Scapini é Engenheira Ambiental e Sanitarista formada pela Universidade Federal da Fronteira Sul ((UFFS, Erechim, RS) e Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental. Atualmente é doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia na Universidade Federal do Paraná (UFPR, Curitiba, PR).

Possui experiência na área de Bioprocessos e Microbiologia voltado a conversão de resíduos agroindustriais, fracionamento de biomassas lignocelulósicas, processos fermentativos, bioenergia e bioprodutos, produção e purificação de enzimas, processos enzimáticos para aplicações ambientais, isolamento e prospecção de microrganismos.

A doutoranda Thamarys possui fator h 9 na base de dados Web of Science, publicou mais de 30 artigos científicos em periódicos internacionais, 1 livro, 19 capítulos de livros e mais de 50 trabalhos publicados em eventos científicos.

Por favor, considere se inscrever na lista de discussão do Projeto Água Subterrânea e mantenha-se informado sobre novos lançamentos de livros, eventos e formas de participar do Projeto Água Subterrânea. Quando você se inscreve em nossa lista de e-mail, isso nos ajuda a construir uma comunidade global de águas subterrâneas. [Inscreva-se](#).



Modificações da Versão Original

Mudanças globais:

todas as ocorrências de μm foram alteradas para μm
os símbolos químicos em itálico foram alterados para formatação normal, inclusive nas Tabelas 1 e 2

página ii, atualizado o título de Szponar para Doutora

página iii, erro de digitação corrigido de Natavlie para Natalie

página vii, ortografia corrigida de Sponzar para Szponar

página 4, último parágrafo da seção 2.1, “Existem tipicamente 10⁵ a 10⁶ células” foi mudado para “Existem tipicamente 10⁵ a 10⁶ células”

página 1, Tabela 1, o 2 em H₂O foi mudado para subscrito na segunda linha, abaixo de “Aceptores de Elétrons”

páginas 26 e 27, a definição dos termos na equação 18 foi esclarecida usando colchetes para indicar que A, B, C e D representam atividades e “(C, D)” foi removido da segunda descrição

página 27, na definição dos termos da equação 18, Δ foi removido de “variação da energia livre de Gibbs (ML²)/(T²mol)”

página 28, no parágrafo após a equação 25, $K_H = 10^{-1.47}$ foi mudado para $K_H = 10^{-1.47}$ e $K_1 = 10^{-6.35}$ foi mudado para $K_1 = 10^{-6.35}$

página 36, equação 32, a segunda ocorrência de K_{app} no denominador do segundo termo no lado direito foi excluída

página 60, o link para a publicação de Janssen e Stucki, 2020 foi adicionado

A