

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS

Caracterização dos agentes corrosivos em sistemas cársticos: estudo de casos dos
aquíferos Una (BA), Bambuí (BA) e Açungui (SP)

Tom Dias Motta Morita

Orientador: Ivo Karmann

De Acordo:

Co-Orientadora: Vivian Pellizari – Instituto Oceanográfico USP

Monografia

TF – 18/38

São Paulo

2018

Dedico este trabalho ao meu vô, Gastão Roberto Motta (*in memoriam*)
Quando entrei na geologia mostrei a ele o 'Decifrando a Terra' Como resposta tive:
– Este livro é um colosso!

Dedico este trabalho também aos Saltimbancos, pessoas que lutam pela liberdade, diversidade
e riquezas imateriais que fazem de nós humanos. Meu profundo respeito e admiração.

“Todos juntos somos fortes
Somos flecha e somos arco
Todos nós no mesmo barco
Não há nada pra temer
Ao meu lado há um amigo
Que é preciso proteger
Todos juntos somos fortes
Não há nada pra temer

E no mundo dizem que são tantos
Saltimbancos como somos nós”
(Os Saltimbancos)

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio de muitas pessoas, cada qual com sua forma única de contribuição, mas o primeiro pedaço do bolo, na verdade, são dois - e são um: minha gratidão profunda aos meus pais Francisco e Suzana, exemplos de paz e harmonia autores da criatura que vos escreve, e fornecedores de toda a oportunidade da vida. E, claro, acompanhando estes vêm meus irmãos, Elisa, Horácio e Alice. Cada um servindo de exemplo para um aspecto diferente e moldando também a forma do caçula que sou.

Caro Professor Doutor Ivo Karmann, agora direciono minha fala à vossa excelência. A sua forma autêntica e genial de ser foi essencial na construção deste trabalho pois, da mesma forma que me confiou este tema um tanto quanto difícil, também deu o apoio necessário em todos os momentos. É um prazer e uma honra tê-lo como orientador e amigo. Aproveito o parágrafo para agradecer ao Ricota (William Sallun) pela amizade e orientação na faculdade, meu pai da graduação! Agradeço também aos funcionários sempre atenciosos e alegres aos professores e professoras do IGc – USP pela intensa dedicação, da maioria.

À co-orientação também devo, e muito! Sou muito grato à Vivian Pellizari pela pronta disponibilidade. Dando tanto o apoio acadêmico como disponibilizando o Laboratório de Ecologia Microbiana do Instituto Oceanográfico (meus agradecimentos à equipe do LECOM, sempre receptiva) e, ainda mais importante, disponibilizando uma pessoa que tornou-se amigo e abraçou com força a ideia da pesquisa. Renato Romano, você foi peça fundamental ao longo de todo o desenvolvimento do trabalho, atuante em toda a parte de microbiologia, servindo também de tradutor entre a biologia e a química, sempre paciente com minha ignorância biológica.

Outra pessoa que tenho a honra de ter como auxiliar neste projeto é meu ‘co-co-orientador’, o grande Regeittão, Lucas Godinho. Este também, paciente e atencioso, deu ao trabalho todos os tipos possíveis de apoio, de cabo a rabo do projeto, sempre acompanhado do Michelangelo o maior cargueiro Fiat Uno da atualidade! Também pelo apoio em campo, risadas e digressões não poderia deixar de citar o Kibe, valeu meu patrão!

Agradeço ao Murilo Valle, pelas dicas no trabalho de campo e pela confiança neste trabalho, que é uma continuação de seu doutorado. Agradeço à Leda Zogbi e ao Projeto Luzes na escuridão pelas fotos cedidas de grutas de Iraquara.

Agradeço à FAPESP pelo apoio em trabalho de campo através do auxílio à pesquisa processo FAPESP 2016/00299-4 (em nome de I Karmann). Agradeço também à equipe do Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN – USP pela parceria com análises químicas.

Tão importante quanto os que ajudaram diretamente no trabalho, estão esses amigos que suportam com tanta paciência minha animação mesmo durante um longo dia de campo sob o Sol escaldante. Este são: Baia, Chuka, Escrota, Gretchen, Indy, Mama, Sacolé (em ordem alfabética, dos apelidos é claro) e todos os membros da panelona, juntos combatendo as forças do mal! Gostaria de falar de cada um, mas falta espaço e coração pra conter a emoção. Amo vocês!

Também não tem como falar dos amigos sem falar na T57! Não somos uma turma muito querida por nossos veteranos diretos, nem pelos indiretos, nem por nossos bixos (diretos e indiretos), nem pelos professores... Mas ainda sim, digo que somos a MELHOR TURMA! E fico feliz de ser parte dela!

E, prá fechar a tampa, está aquilo que me impulsionou por toda a graduação e que me proporciona as mais diversas experiências, Grupo da Geo de Espeleologia da USP (GGeo). Vendo quantas pessoas ilustres passaram por este grupo me sinto honrado de fazer parte dessa família e agradeço, com um sentimento forte, aos meus contemporâneos, cujos nomes são muitos.

Opa! Quase que ficou pra trás de novo! Pintolé, não esqueci não, você tá junto dos migos!

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	2
3	GEOLOGIA DAS ÁREAS ESTUDADAS.....	3
3.1	Iraquara - Grupo Una	3
3.2	São Desidério - Grupo Bambuí.....	4
3.3	Iporanga - Supergrupo Açungui.....	5
4	CARACTERÍSTICAS GEOESPELEOLÓGICAS DOS SISTEMAS DE CAVERNAS ESTUDADOS E DEPÓSITOS MINERAIS ASSOCIADOS.....	7
4.1	Iraquara	8
4.2	São Desidério	11
4.3	Iporanga.....	13
5	AGENTES CORROSIVOS EM SISTEMAS CÁRSTICOS	15
6	METODOLOGIA	20
6.1	Hidroquímica	20
6.1.1	Dados disponíveis na literatura	20
6.1.2	Amostragem e coleta de dados	20
6.1.3	Análise de dados e tratamento estatístico	20
6.2	Microbiologia	21
6.2.1	Amostragem.....	21
6.2.2	Extração de DNA e sequenciamento do gene 16S RNA ribossomal	21
6.2.3	Processamento de dados do sequenciamento e análises estatísticas	21
7	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	22
7.1	Trabalho de campo	22
7.2	Hidroquímica	28
7.2.1	Iraquara.....	29
7.2.2	São Desidério.....	31
7.2.3	Iporanga	33
7.2.4	Comparações entre os sistemas hidroquímicos	35
7.3	Microbiologia	38
7.3.1	Diversidade	38
7.3.2	Distribuição.....	40
8	CONCLUSÕES.....	41
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

RESUMO

O estudo do ácido sulfúrico como agente corrosivo na espeleogênese, se faz presente desde a década de 1980 para explicar a existência de águas corrosivas no ambiente freático de sistemas cársticos responsáveis pela formação de condutos em grandes profundidades. Este trabalho contribui com a pesquisa da origem do ácido sulfúrico, comparando os sistemas cársticos de Iraquara (BA), São Desidério (BA) e Iporanga (SP) a partir de análises hidroquímicas coletadas da literatura, e pelo tratamento de dados do sequenciamento de DNA de amostras microbiológicas coletadas em campo.

Dentre os três sistemas estudados, Iraquara se destaca dos demais por características descritas na literatura como a presença de condutos de grande volume com morfologia freática e cavernas com expressiva quantidade e diversidade de espeleotemas de gipsita. Além destes fatores, Iraquara também se destaca por apresentar dados hidroquímicos com altos valores de TDS (total de sólidos dissolvidos) bem como altos valores do ânion sulfato na água com concentrações superiores a 800 mg/L em alguns pontos. Estes fatores todos são indicativos de que a espeleogênese em Iraquara deve contar com a participação do ácido sulfúrico.

Os dados microbiológicos analisados mostraram a grande abundância relativa de proteobactérias dos gêneros *Thiobacillus* e *Thiothrix* na região de Iraquara, gêneros cujo metabolismo está ligado ao ciclo do enxofre, nos pontos IR_05 e IR_06 onde a água subterrânea apresentou as maiores concentrações de sulfato. Estes resultados indicam que a presença do ácido sulfúrico na espeleogênese de Iraquara deve estar associada a presença destas bactérias que realizam a oxidação dos sulfetos metálicos da rocha encaixante, promovendo a formação de H_2SO_4 .

Em contraste, o sistema cárstico do Grupo Açungui na região de Iporanga, SP, apresenta os menores teores de TDS e menores concentrações de sulfato. Também foi observado que os micro-organismos oxidantes de enxofre foram identificados em uma abundância relativa menor que nas amostras de Iraquara, o que pode indicar o motivo das baixas concentrações de sulfato na água uma vez que a fonte litológica de enxofre é similar ao sistema de Iraquara. O sistema cárstico de São Desidério situa-se com valores intermediários em concentrações de sólidos dissolvidos e não foram identificados micro-organismos oxidantes ou redutores de enxofre no sequenciamento.

ABSTRACT

Sulfuric acid as a speleogenetic corrosive agent is mentioned in the karst literature since the 1980 decade to explain the existence of corrosive waters in karst systems, as responsible to the development of conduits in great depths in the phreatic zone. This study contributes with the research of sulfuric acid origin, comparing karst systems of Iraquara (BA), São Desidério (BA) and Iporanga (SP) based on hydrochemistry and DNA sequencing microorganisms from phreatic water samples.

Among the three studied systems, Iraquara stands out in a series of characteristics from literature like the presence of great volume conduits with well-developed phreatic morphology and caves with expressive amount and diversity of gypsum speleothems. Beyond this factors, Iraquara also stands out by presenting high total dissolved solids values as well as high sulphate values in water with concentrations of 800 mg/L in some sites. This factors are indicatives of sulfuric acid participation in speleogenesis.

Results of microbiological analyses show great relative abundance of Thiobacillus and Thiothrix gender of Proteobacteria in Iraquara region, whose metabolism relates with the sulfur cycle, in IR_05 and IR_06 sites with highest sulfate concentrations. This results indicates that the presence of sulfuric acid in Iraquara speleogenesis must be associated with the presence of these bacteria which promotes the oxidation of metal sulphides from the host rock, originating H₂SO₄.

Opposed to Iraquara, Iporanga, SP karst system, has the smaller dissolved solids and sulphate concentration values. It was also observed that sulfur oxidizing microorganisms exists in smaller relative abundance comparing with Iraquara, which indicate the reason of low sulphate concentrations in water once the lithological source of sulfur are similar for the two areas. São Desidério karst system have intermediate dissolved solids concentration values and neither sulfur oxidizers or reducers microorganisms were identified in DNA sequencing.

1 INTRODUÇÃO

A evolução de sistemas cársticos com cavernas e aquíferos de condutos tradicionalmente foi atribuída à dissolução de rochas carbonáticas pela ação do ácido carbônico (Bögli, 1980), mas uma questão controversa nos modelos espeleogenéticos tradicionais era a origem da agressividade da água subterrânea em grandes profundidades no ambiente freático onde ocorrem aquíferos de condutos. A pergunta fundamental da espeleogênese era: como explicar águas insaturadas em relação ao CaCO_3 em ambientes profundos após longos percursos de circulação destas águas em rochas carbonáticas (evidenciadas por feições de dissolução), sendo que estas se encontram praticamente saturadas em relação ao carbonato de cálcio nos primeiros metros de infiltração no sistema fissurado?

Na década de 80 surgem os primeiros modelos hidroquímicos em sistemas cársticos onde a ação do ácido carbônico é combinada com outras fontes corrosivas como o ácido sulfúrico gerado em profundidade (Ford e Williams, 1989). Ao procurar entender mais a respeito da origem do ácido sulfúrico em alguns sistemas, Hill (1995) descreveu todas as etapas das equações químicas que ocorrem a partir da ação de bactérias em depósitos de hidrocarbonetos subjacentes a rochas carbonáticas dando origem ao ácido sulfúrico, usando como exemplo um sistema cárstico do Novo México, EUA, e posterior desenvolvimento de porosidade terciária e cavernas. Valle (2004) também procurou demonstrar a origem do ácido sulfúrico a partir de bactérias oxidantes do enxofre em sulfetos disseminados no Grupo Una, em Iraquara (BA).

O Grupo Una, juntamente com o Grupo Bambuí, representam as unidades carbonáticas com maiores áreas de afloramento de rochas e nas quais desenvolvem-se as maiores cavernas do Brasil (Sallun Filho e Karmann, 2012). As duas maiores cavernas brasileiras (Toca da Boa Vista e Toca da Barriguda) estão localizadas no município de Campo Formoso, no norte da Bahia, e inseridas em carbonatos do Grupo Una. Auler e Smart (2003) estudaram a formação destas cavernas associando-as com um processo de gênese hipogênica a partir da corrosão da rocha pelo ácido sulfúrico, sem demonstrar a origem deste. Por outro lado, Karmann (1994) ao analisar águas coletadas no Vale do Ribeira em rochas carbonáticas de composição similar às do Grupo Una (presença de sulfetos) não observou altos índices de sulfato. Assim, se percebeu a necessidade de compreender melhor quais os processos que controlam a origem e formação do ácido sulfúrico em aquíferos cársticos.

Desta forma o presente trabalho procura avançar os estudos realizados por Valle (2004) e entender o sistema químico na espeleogênese a partir do ácido sulfúrico e sua origem no aquífero através da atividade orgânica. O estudo é feito por meio da comparação de aquíferos de diferentes províncias cársticas brasileiras (Figura 1) com assinaturas hidroquímicas distintas onde procura-se identificar a presença ou não de micro-organismos ligados ao ciclo do enxofre e desta maneira

associar as características hidroquímicas à ação microbiana no ambiente freático. Foram investigados aquíferos cársticos do Grupo Una (Iraquara, BA), Grupo Bambuí (São Desidério, BA) e Supergrupo Açungui (Iporanga, SP).

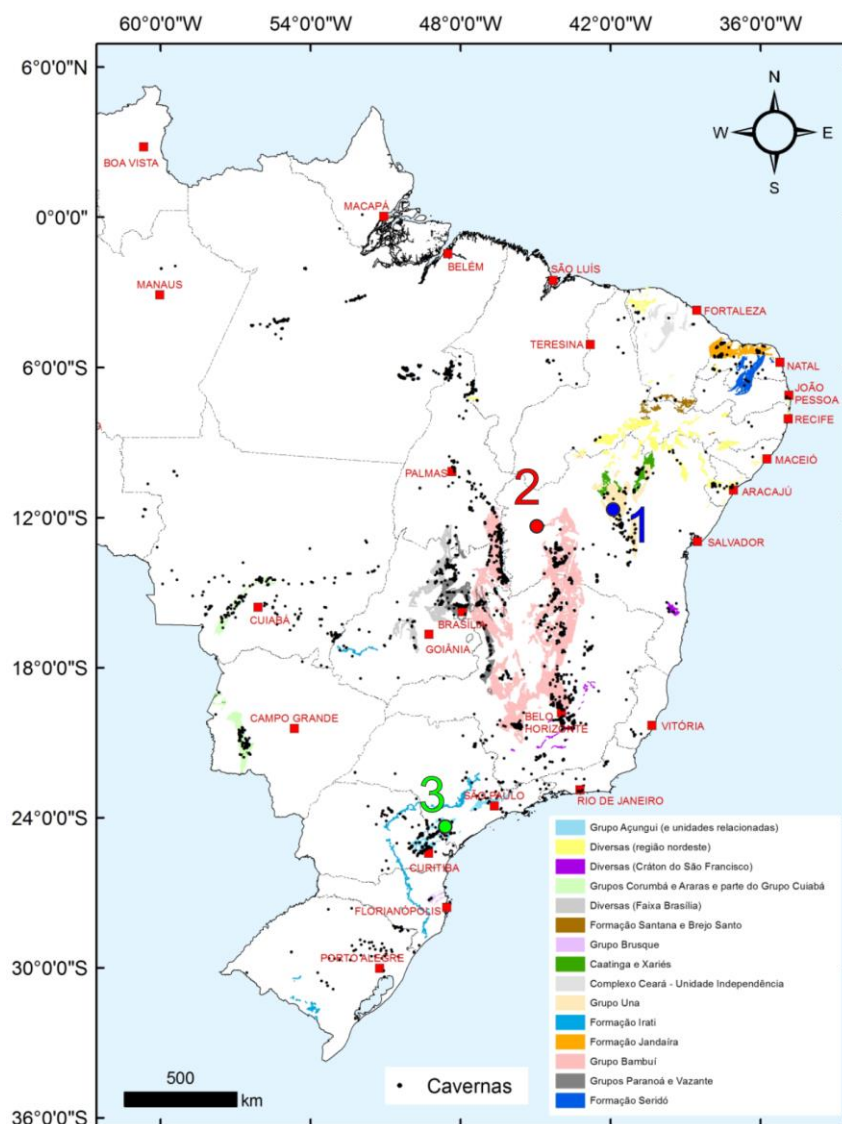


Figura 1. Distribuição das unidades geológicas de rochas carbonáticas (Bizzi et al., 2001) e cavernas no Brasil. (CECAV 2012), modificado de Sallun Filho e Karmann (2012) e localização de Iraquara – BA (1), São Desidério – BA (2) e Vale do Ribeira – SP (3).

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo central contribuir no entendimento da espeleogênese por meio da ação do ácido sulfúrico, procurando compreender a origem do agente corrosivo no sistema. Para isso o projeto apresenta como objetivos específicos:

- Caracterizar os aquíferos cársticos de Iraquara (BA), São Desidério (BA) e Iporanga (SP) pela hidroquímica;
- Comparar os sistemas cársticos estudados com base na hidrogeoquímica, morfologia de cavernas e composição de espeleotemas associados;

- Verificar a presença de micro-organismos com metabolismo ligado ao ciclo do enxofre nos aquíferos estudados;
- Estudar a biodiversidade microbiana de Iraquara através de métodos de seqüenciamento de nova geração;
- Estabelecer relações entre a microbiologia e a hidroquímica do aquífero, no estudo da formação do ácido sulfúrico.

3 GEOLOGIA DAS ÁREAS ESTUDADAS

3.1 Iraquara - Grupo Una

O Grupo Una consiste de uma sequência sedimentar majoritariamente carbonática pertencente ao Superggrupo São Francisco e compõe a cobertura sedimentar neoproterozoica do Cráton do São Francisco (Figura 2).

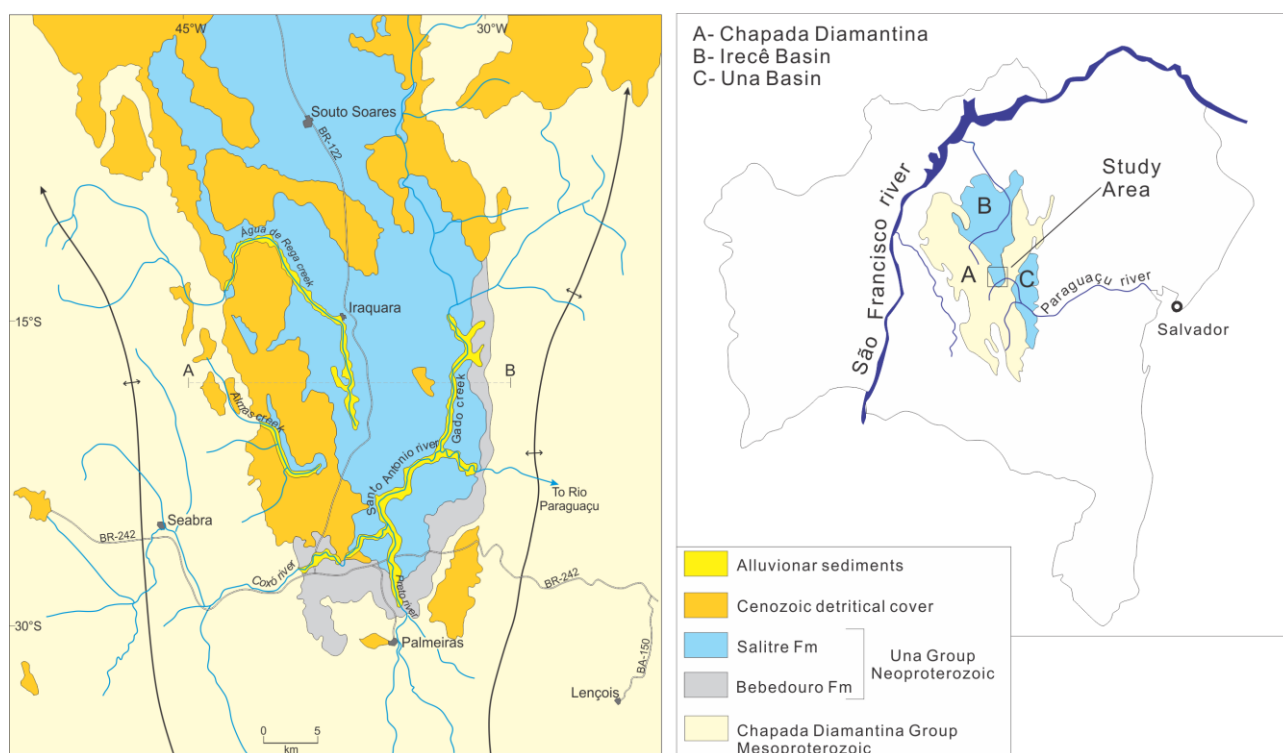


Figura 2. Mapa geológico simplificado da área de estudo em Iraquara, BA. Modificado de CPRM (1999) e Laureano (2014).

O Grupo Una é dividido nas Formações Bebedouro e Salitre, sendo a Fm. Bebedouro composta por metassedimentos siltico-argilosos com intercalações de metagrauvacas conglomeráticas com a presença de clastos em diversos tamanhos e graus de angulação, que permitiram a caracterização destas como diamictitos de origem sedimentar glacial, segundo Misi (1979).

Acima dos sedimentos siliciclásticos da Formação Bebedouro inicia-se a sequência sedimentar predominantemente carbonática da Fm. Salitre que tem em sua base calcários e calcários dolomíticos laminados que gradam para dolomitos e grainstones em uma camada inferior.

Na camada média da formação ocorrem calcários argilosos, folhelhos e siltitos e na camada superior os calcários apresentam coloração mais escuro acinzentada pela presença de matéria orgânica (Misi e Kyle, 1994).

Associados aos carbonatos do Grupo Una encontram-se diversas ocorrências minerais de sulfetos que foram encontrados, tais como galena, pirita, calcopirita, esfalerita e covelita disseminados (Misi e Souto, 1975).

3.2 São Desidério - Grupo Bambuí

O Grupo Bambuí representa uma sucessão sedimentar depositada durante o Neoproterozoico apresentando rochas carbonáticas e siliciclásticas associadas a ambientes marinhos. No local de estudo, em São Desidério, são divididas quatro unidades que são correlacionadas às unidades clássicas do Grupo Bambuí. Sendo estas a Formação Canabrinha, Formação São Desidério, Formação Serra da Mamona e Formação Riachão das Neves que correspondem na nomenclatura clássica às Formações Jequitaí, Lagoa do Jacaré, Serra da Saudade e Três Marias, respectivamente (Egydio da Silva *et al.*, 1989).

A litoestratigrafia do Grupo Bambuí apresenta grandes semelhanças com o Grupo Una de forma que eles podem ser correlacionados temporalmente, sendo que ambos se formaram em ambiente marinho epicontinental.

O Grupo Bambuí está localizado, geotectonicamente, dentro do cráton do São Francisco sendo esta unidade uma das coberturas sedimentares do cráton. Acima do Grupo Bambuí está disposto o Grupo Urucuia que corresponde a pelitos e arenitos que recobrem o Chapadão Central, que se estende por cima de uma grande área do Grupo Bambuí. O sistema cárstico de São Desidério se diferencia dos demais sistemas brasileiros por estar desenvolvido em uma área carbonática aflorante em meio aos arenitos do Grupo Urucuia (Figura 3), diferentemente dos demais afloramentos do Grupo Bambuí que estão localizados na borda do Chapadão Central.

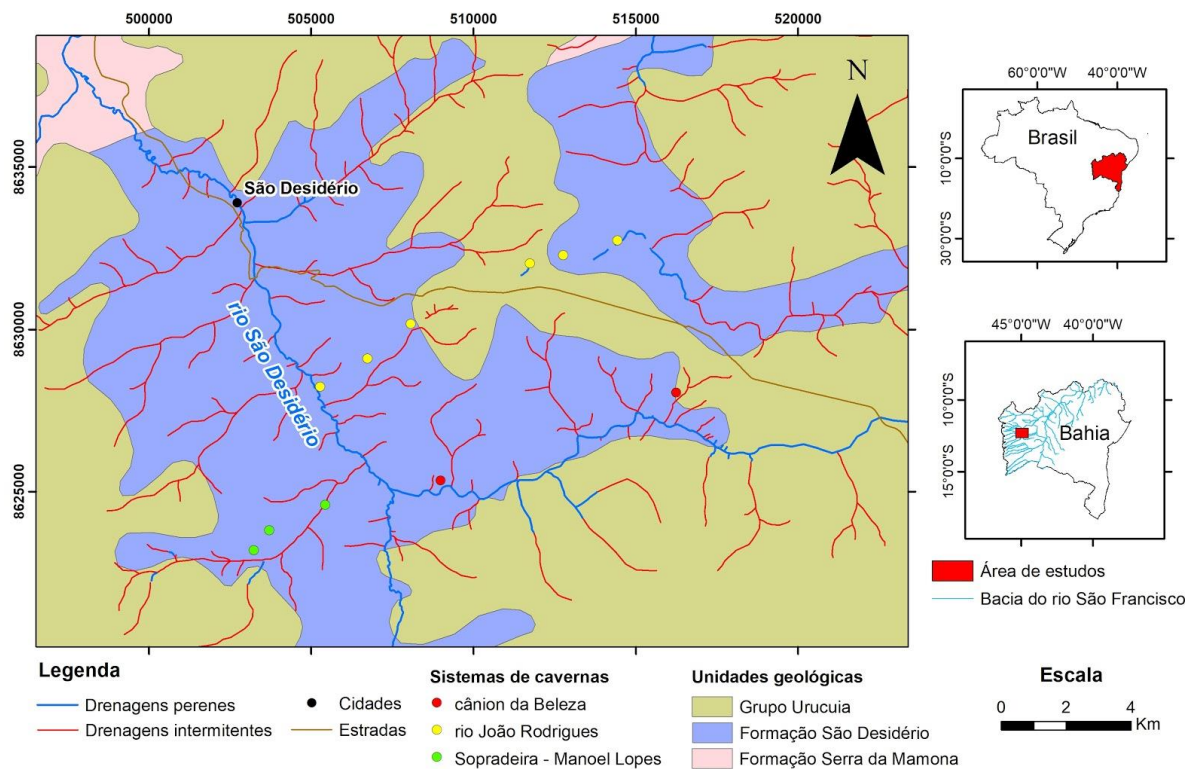


Figura 3. Mapa geológico da área de estudo em São Desidério, BA. Retirado de Godinho (2017).

3.3 Iporanga - Superggrupo Açungui

Encontra-se em meio ao Cinturão Ribeira e é descrito como uma sucessão de rochas supracrustais metavulcanossedimentares com embasamento proterozoico formado por gnaisses-migmatíticos com intercalações metassedimentares e grau metamórfico médio a alto. O Bloco Lageado, definido inicialmente por Campanha (1992) é a unidade que abriga diversos sistemas cársticos do Vale do Ribeira. O Subgrupo Lageado é constituído por rochas metassedimentares de baixo grau metamórfico apresentando metacalcários, metassiltitos, metarenitos e filitos (figura 4).

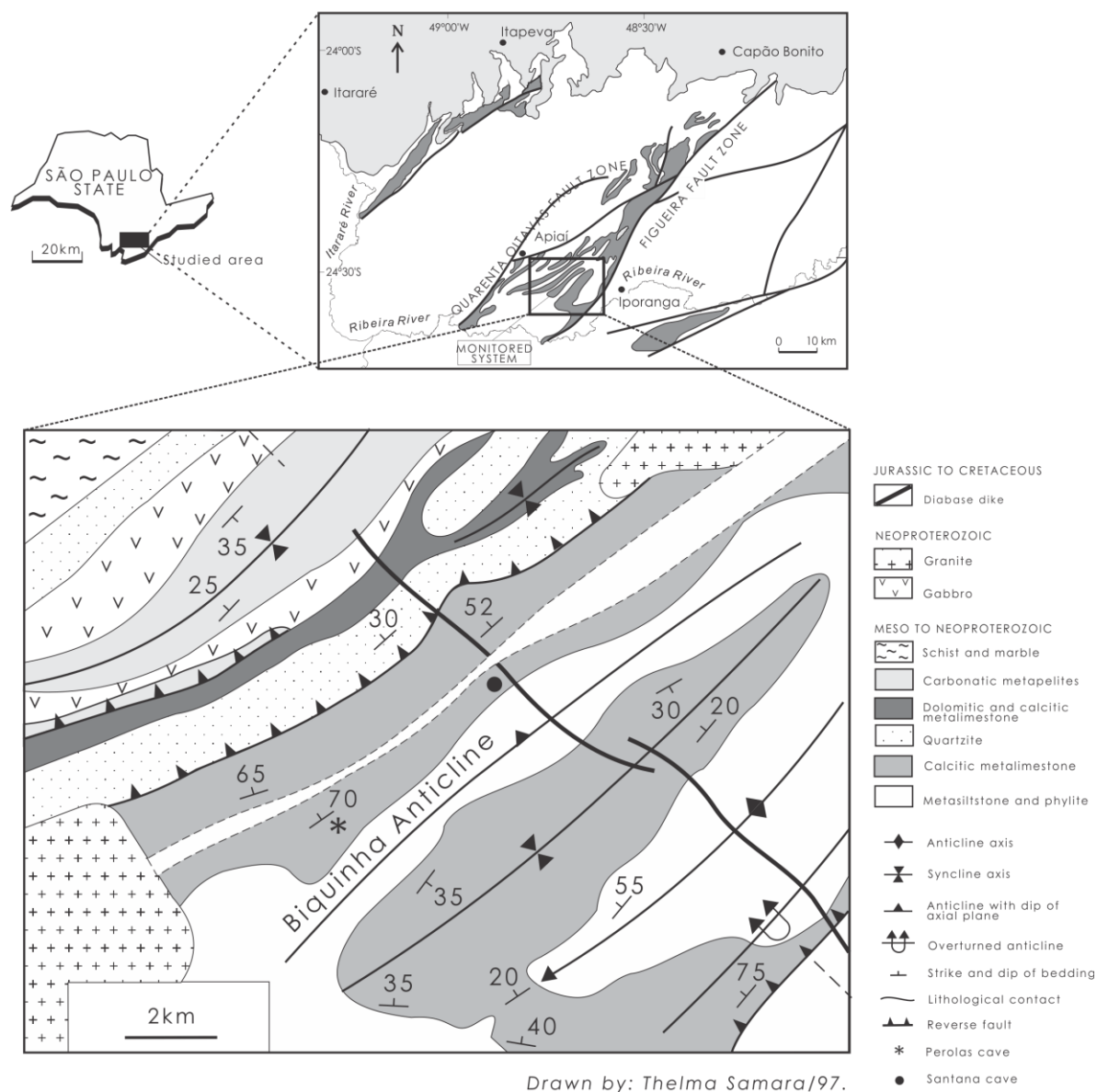


Figura 4. Mapa geológico da área de estudo em Iporanga, SP. Adaptado de Karmann (1994).

Ocorrem na região mineralizações de sulfetos historicamente conhecidas, sendo que a região começou a produzir minério de chumbo e prata em 1922 (Barbour *et al.*, 1990) e os depósitos foram mencionados pela primeira vez na região em 1858 (Barbosa e Guimarães, 1946 *apud* Araújo, 1999). Os depósitos são divididos em dois tipos, podendo apresentar origem sindeposicionais estratiformes, em meio aos depósitos carbonáticos, de origem exalativa, ou corresponder a mineralizações concentradas em filões dispostos em planos de descontinuidade das rochas carbonáticas com origem hidrotermal (Araújo, 1999).

4 CARACTERÍSTICAS GEOESPELEOLÓGICAS DOS SISTEMAS DE CAVERNAS ESTUDADOS E DEPÓSITOS MINERAIS ASSOCIADOS

O estudo das características físicas dos sistemas estudados é de grande relevância, pois feições morfológicas de cavernas tanto em planta como em seções transversais e longitudinais podem ser indicativos de etapas e processos espeleogenéticos. Palmer (1991) realizou um levantamento morfológico de cavernas em rochas solúveis (eg. rochas carbonáticas e evaporitos) estabelecendo um modelo de espeleogênese para cada tipo de morfologia encontrada (Figura 5), sendo o tipo de recarga e de porosidade os fatores fundamentais determinantes da morfologia da caverna.

Palmer (1991) propõe cinco tipos de morfologias de cavernas em rochas solúveis, e mostra que mais que um morfotipo pode aparecer dentro de uma mesma cavidade, sendo eles: dendrítico (*branchwork*), reticulado ou em rede (*network*), anastomosado (*anastomotic*), espongiforme (*spongework*) e ramiforme (*ramiform*), descritas abaixo:

Cavernas dendríticas: correspondem a 57% das cavernas e apresentam uma morfologia similar às redes fluviais com um conduto principal mais desenvolvido que recebe os condutos tributário menos desenvolvidos.

Cavernas em rede: Correspondem a cerca de 17% das cavernas e apresentam um padrão labiríntico com baixa sinuosidade dos condutos e intersecção angulosas de condutos e desenvolvimento equivalente dos condutos.

Cavernas anastomosadas: Compõem 3% das cavernas e, assim como as cavernas dendríticas estas também apresentam similaridades com sistemas fluviais, neste caso anastomosados. O condutos das cavernas se entrelaçam de forma curvilínea, dando origem a um padrão labiríntico.

Cavernas espongiiformes: Representam 5% das cavernas e consistem na coalescência entre diversas cavidades de dissolução.

Cavernas ramiformes: Consistem em 4% das cavernas e apresentam uma morfologia labiríntica com condutos e salões irregulares. Estas cavernas muitas vezes apresentam morfologias gradacionais para as espongiiformes ou em rede.

Palmer (1991) também distingue cavernas entre epigênicas e hipogênicas, sendo as epigênicas formadas por uma recarga de água superficial sobrejacente ou em áreas adjacentes. Já as cavernas hipogênicas são descritas pelo autor como sendo formadas por ácidos com origem em profundidade ou por ácidos epigênicos rejuvenescidos em profundidade. O autor ainda indica que as cavernas hipogênicas apresentam morfologias preferencialmente ramiformes, seguida de espongiiformes e em rede, as duas últimas em menor proporção.








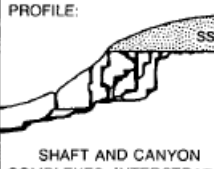


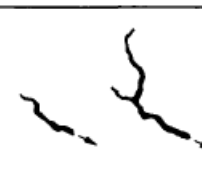

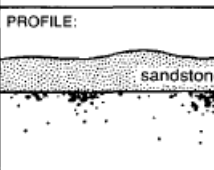

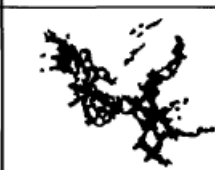
		TYPE OF RECHARGE				
		VIA KARST DEPRESSIONS		DIFFUSE		HYPOGENIC
		SINKHOLES (LIMITED DISCHARGE FLUCTUATION)	SINKING STREAMS (GREAT DISCHARGE FLUCTUATION)	THROUGH SANDSTONE	INTO POROUS SOLUBLE ROCK	DISSOLUTION BY ACIDS OF DEEP-SEATED SOURCE OR BY COOLING OF THERMAL WATER
		BRANCHWORKS (USUALLY SEVERAL LEVELS) & SINGLE PASSAGES	SINGLE PASSAGES AND CRUDE BRANCHWORKS, USUALLY WITH THE FOLLOWING FEATURES SUPERIMPOSED:	MOST CAVES ENLARGED FURTHER BY RECHARGE FROM OTHER SOURCES	MOST CAVES FORMED BY MIXING AT DEPTH	
DOMINANT TYPE OF POROSITY	FRACTURES	 ANGULAR PASSAGES	 FISSURES, IRREGULAR NETWORKS	 FISSURES, NETWORKS	 ISOLATED FISSURES AND RUDIMENTARY NETWORKS	 NETWORKS, SINGLE PASSAGES, FISSURES
	BEDDING PARTINGS	 CURVILINEAR PASSAGES	 ANASTOMOSES, ANASTOMOTIC MAZES	PROFILE:  SHAFT AND CANYON COMPLEXES, INTERSTRATAL SOLUTION	 SPONGEWORK	 RAMIFORM CAVES, RARE SINGLE-PASSAGE AND ANASTOMOTIC CAVES
	INTERGRANULAR	 RUDIMENTARY BRANCHWORKS	 SPONGEWORK	PROFILE:  sandstone RUDIMENTARY SPONGEWORK	 SPONGEWORK	 RAMIFORM & SPONGEWORK CAVES

Figura 5. Sumário de padrões de cavernas e sua relação com tipos de recarga e porosidade. Mapas em planta, com exceção das figura indicadas como 'Profile'. Extraído de Palmer (1991).

O estudo de depósitos minerais em cavernas também podem fornecer informações relevantes ao estudo da espeleogênese. Hill (1995) e Valle (2004) demonstram que a presença expressiva de espeleotemas de gipsita em cavernas podem ser um indicativo de espeleogênese por ácido sulfúrico, *Sulfuric Acid Speleogenesis* (SAS) como é citado por diversos autores (Hill, 1990; Plan, 2012 Picini *et al.*, 2015; De Waele *et al.*, 2016), uma vez que a origem do enxofre na composição do espeleotema (CaSO_4) pode estar diretamente relacionada com o enxofre do agente corrosivo, o ácido sulfúrico (H_2SO_4).

O exemplo clássico de espeleotemas de gipsita em cavernas formadas por SAS são as cavernas de Carlsbad, no Novo México, EUA em que ocorrem depósitos de porte muito variado e grande diversidade de espeleotemas. Hill (1990) descreve os depósitos de gipsita em dois tipo na caverna Carlsbad: 1) Blocos e crostas de gipsita, que podem apresentar espessuras de até 10 m e 2) espeleotemas, como estalactites e flores de gipsita ou agulhas de selenita.

4.1 Iraquara

O sistema cárstico associado ao Grupo Una na bacia de Irecê é caracterizado por um aquífero de condutos muito bem desenvolvido, evidenciado através da perfuração de poços que

revelam alta produção de água (Guerra, 1986) e abastecem a população local tendo em vista a baixa ocorrência de águas superficiais (Laureano, 1998), e também pela presença de cavernas cuja morfologia evidencia a ampliação freática que gerou condutos com diâmetros decamétricos, pouco modificados por entalhamento vadoso. O padrão em planta corresponde a sistemas com padrão geral distributário e entrelaçado, condutos com mais de 20 metros de diâmetro, podendo variar localmente dentro de setores das cavernas, apresentando padrões em rede, divergentes e anastomosados chegando a ser labirínticos, além de apresentar algumas galerias e salões com mais de 100 metros de largura com feições de abatimento (Cruz Junior, 1998).

Em seções transversais dos condutos das cavernas são identificadas feições de iniciação freática muito desenvolvida além de fases ligadas à sedimentação e uma fase de desenvolvimento paragenético como é possível ver na figura 6 em que o teto tem morfologia elipsoidal vinculada à iniciação freática e na base é possível identificar o resultado do entalhamento vadoso com sobreposição de feições da paragênese.



Figura 6. Vista em seção de conduto (entrada do conduto do Hagar) na gruta Lapa Doce II, Iraquara, BA. Foto: Tom Morita

Cruz Jr. (1998) divide a espeleogênese das cavernas de Iraquara em quatro fases: 1.abertura, que consiste na iniciação freática, bem desenvolvida e identificada por tetos elipsoidais amplos; 2. ampliação de condutos, através de provável entalhamento vadoso ou até ampliação freática; 3. assoreamento de condutos, em que houve um preenchimento dos condutos por sedimentos alóctones, levando a modificação das feições de paredes e tetos anteriores pela ação

da paragênese, o que produziu pendentes e canais de teto; 4.desobstrução de condutos, que consiste na remoção parcial do sedimento. Outra feição observada por Cruz Jr. (1998) são as cúpulas de corrosão, feições de teto que podem indicar uma corrosão por um fluxo ascendente ou enchentes de cavernas.

Quanto aos depósitos minerais secundários associados ao sistema cárstico, as cavernas de Iraquara destacam-se, além de calcita e aragonita, pela presença de gipsita na forma de crostas que recobrem a rocha encaixante e espeleotemas de carbonato de cálcio, e cristais do tipo agulhas. Valle (2004) identificou em cavernas do Grupo Una sete tipos principais de depósitos de gipsita:

Gipsita acicular (agulhas): Ocorrem na Gruta Torrinha e se caracterizam como cristais aciculares de gipsita (Figura 7) com diâmetro de cerca de 2 mm e comprimento variado chegando a 30 cm. Encontram-se dispostos geralmente em pilhas de sedimentos.

Crostas de gipsita: Consistem em crostas de gipsita com espessura submilimétrica a milimétricas (5 mm) recobrendo paredes da rocha carbonática, espeleotemas e blocos abatidos.

Gipsita fibrosa: Feixes milimétricos formados por fibras paralelas e retorcidas de gipsita, encontram-se associadas a fraturas nas rochas e até gretas de contração em sedimentos.

Estalactites: Ocorrem como extremidades de estalactites de calcita, sendo que a precipitação ativa ocorre nesta extremidade como gipsita.

Filamentos de gipsita: Conjunto de filamentos centimétricos com espessura submilimétrica entrelaçados dispostos em paredes.

Gipsita maciça e tabular: Depósitos tabulares de gipsita em planos de acamamento e superfície de espeleotemas como escorrimentos. Apresentam espessura submilimétrica a centimétrica.

Gipsita e epsomita em pó: Consiste em camadas de fragmentos finos de gipsita (CaSO_4) e epsomita (MgSO_4) em pó recobrendo o piso da caverna (Toca da Boa Vista) chegando a espessuras centimétricas.



Figura 7. Depósito de agulhas de gipsita em sedimento na Gruta Torrinha, Iraquara, BA. Foto: Ataliba Coelho, Projeto Luzes na Escuridão.

4.2 São Desidério

O sistema cárstico de São Desidério, apresenta uma complexa sequência de etapas espeleogenéticas ainda pouco estudadas Godinho (2017) foca a pesquisa em três sistemas principais de cavernas em São Desidério, o Sistemas de Cavernas do Rio João Rodrigues (SCRJR), Sistema de Cavernas Sopradeira - Manoel Lopes (SCSML) e Sistema de Cavernas do Cânion da Beleza (SCCB).

Os sistemas de cavernas diferem-se principalmente pela presença e quantidade de abatimentos que podem indicar uma idade relativa entre cada um dos sistemas, porém de forma geral é possível identificar no sistema cárstico de São Desidério cavernas com grandes dimensões volumétricas, com grandes salões formados por abatimento, como o Salão do Lago do Cruzeiro na caverna Buraco do Inferno da Lagoa do Cemitério no qual localizava-se o maior lago subterrâneo do Brasil, atualmente seco. Outra característica do sistema cárstico observado por Godinho (2017) consiste na presença de diversos depósitos sedimentares indicando tanto fases de entalhamento vadoso como fases de preenchimento sedimentar dos condutos ocasionando feições de paragênese muito comuns nas cavernas da região como os tetos horizontais, pendentes, anastomoses e condutos de teto bem desenvolvidos (Figura 8).



Figura 8. Caverna Garganta do Bacupari, São Desidério, com feições de iniciação freática representada pelo conduto no canto superior esquerdo da foto, anastomoses preenchidas por sedimentos no teto da caverna no centro e direita da foto. Foto: Tom Morita

Com relação aos depósitos químicos em cavernas do sistema cárstico de São Desidério, ainda não existem trabalhos publicados com descrição e diversidade de espeleotemas de forma mais abrangente, assim como a bibliografia para geologia de cavernas deste sistema também é escassa. Godinho (2017) e Duarte *et al.* (2018), porém, já descrevem alguns espeleotemas encontrados no Sistema de Cavernas do Rio João Rodrigues e mais especificamente na Gruta do Catão. O espeleotema descrito apresenta uma morfologia arredondada irregular muito incomum com gênese subaquática e com indicações de se tratar de um espeleotema bioinduzido (Godinho, 2017; Duarte *et al.*, 2017).

Em trabalho de campo foram observados espeleotemas como estalactites, estalagmites, escorrimentos, travertinos, entre outros, porém com composição calcítica. Não foram observados espeleotemas com hábitos ou texturas que sugerissem a composição mineral de gipsita.

Godinho, em seu trabalho de doutorado (em andamento) já descreveu espeleotemas de gipsita em planos de acamamento abertos, com morfologia de pequenos cristais aciculares de gipsita, possivelmente gerados por exsudação, com mineralogia confirmada por difração de Raios-X (Godinho, comunicação verbal).

4.3 Iporanga

O sistema cárstico do Alto Vale do rio Ribeira de Iguape, embora apresente uma quantidade expressiva de cavernas, estas representam uma parcela muito pequena em volume e dimensões quando comparado às dimensões das áreas aflorantes de rochas carbonáticas na região (Karmann, 1994). O endocarste apresenta características diferentes do encontrado no dois sistemas cársticos baianos estudados, uma vez que a morfologia das cavernas revelam um desenvolvimento freático pouco desenvolvido, mas em compensação o entalhamento vadoso é bastante expressivo (Karmann, 1994) o que pode ser observado principalmente nas seções transversais de cavernas.(figura 9).

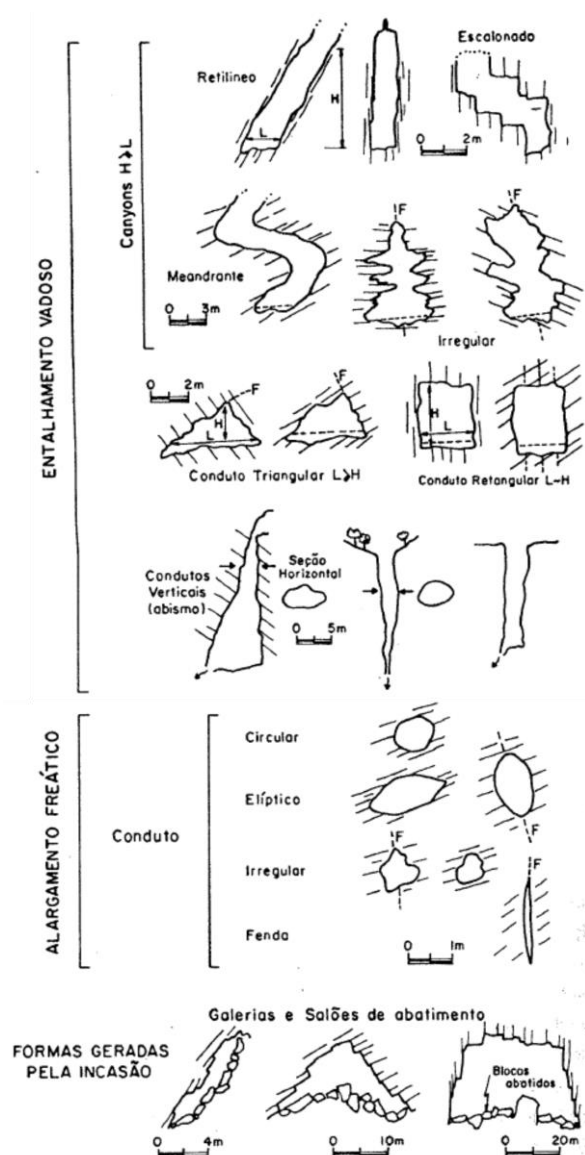


Figura 9. Classificação morfológica de seções transversais (plano vertical) em condutos de cavernas na região de Iporanga (SP). L = largura, H = altura, F = traço de fratura. extraído de Karmann (1994).

Quanto morfologia em planta (Figura 10) Karmann (1994) identificou dois tipos principais de cavernas, segundo a classificação de Worthington (1991), sendo estas, cavernas curvilíneas e sinuosas, representadas pelas cavernas Areias e Água Suja (setor a jusante do salão de

abatimentos) e cavernas retilíneas e angulosas em que estão incluídas as cavernas Santana e Ouro Grosso. Além desses tipos de condutos, o autor também descreve a morfologia de abatimento por incasão gerando grandes salões, como é o caso da caverna Laje Branca. Ambos os tipos de cavernas indicados por Karmann (1994), podem ser incluídas dentro de uma classificação morfológica mais abrangente como cavernas dentríticas propostas por Palmer (1991) como branchwork (Figura 5).

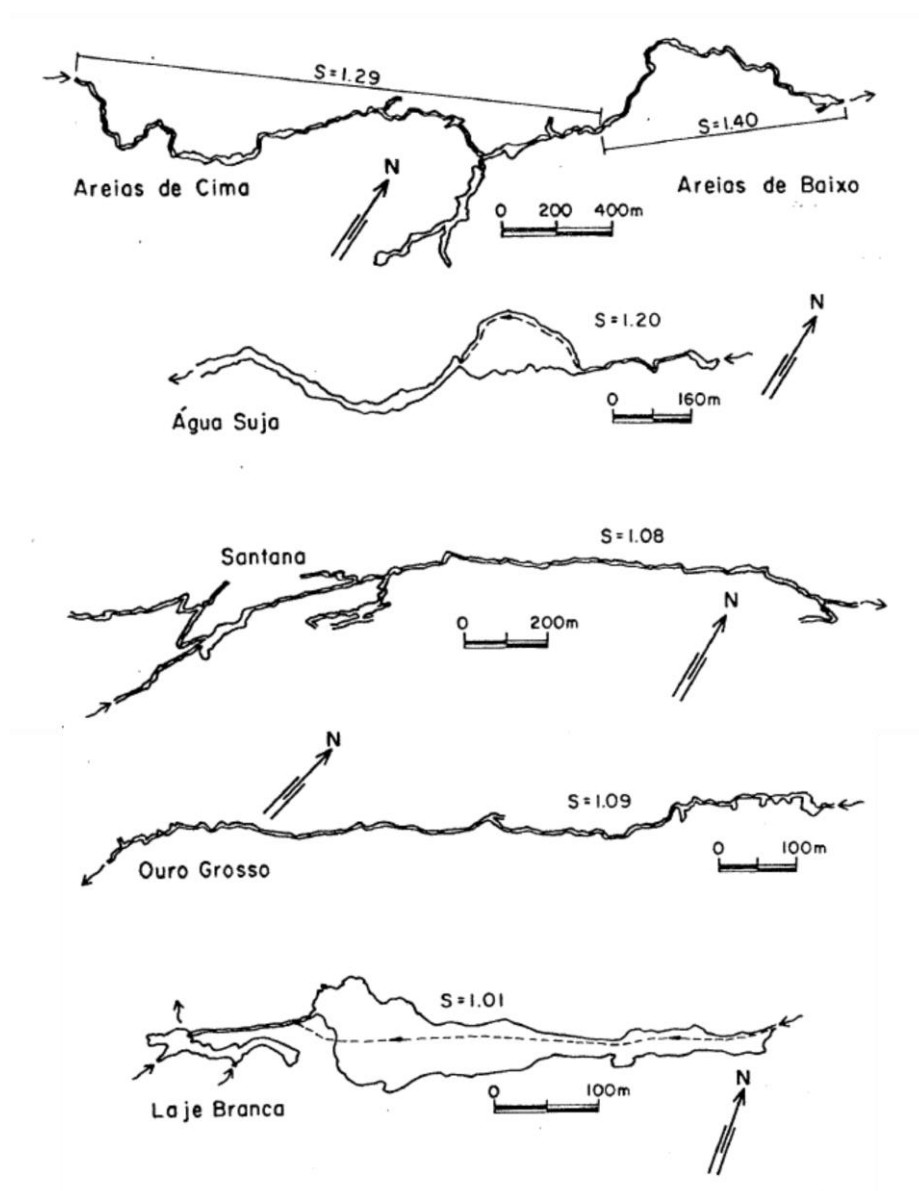


Figura 10. Padrões em planta das cavernas da área estudada. As setas indicam sentido do fluxo e S = sinuosidade das rotas. Retirado de Karmann (1994).

O sistema cárstico do Alto Vale do Ribeira compreende algumas cavernas com expressiva ornamentação, sendo a grande maioria dos espeleotemas encontrados compostos por carbonato de cálcio. Karmann e Ferrari (2012) descrevem uma grande diversidade de espeleotemas de calcita como estalactites, estalagmites, cortinas, escorrimentos, represas de travertinos, helectites, entre outros menos comuns. Além dos espeleotemas de calcita que correspondem a maior parte destes

depósitos químicos, ocorrem também espeleotemas de aragonita, sendo que estes podem ocorrer como estalactites, estalagmites, flores e agulhas. Outro mineral formador de espeleotemas nesse sistema é a hidromagnesita, em menor proporção que os minerais anteriores, formando espeleotemas do tipo cotonete, recobrando outros espeleotemas (Karmann e Ferrari, 2012).

Espeleotemas de gipsita também podem ocorrer em cavernas deste sistema, mas são muito mais raros e de pequeno porte, variando de milímetros até 1 cm. A morfologia destes consiste em tufo de cristais fibrosos, ou como coberturas de espessura milimétrica (Karmann e Ferrari, 2012).

5 AGENTES CORROSIVOS EM SISTEMAS CÁRSTICOS

As feições morfológicas que caracterizam sistemas cársticos são formadas principalmente pela dissolução da rocha hospedeira. Desse modo, o estudo do agente corrosivo que proporciona a dissolução é de suma importância nestes sistemas. Inicialmente a corrosão de rochas carbonáticas era quase que exclusivamente atribuída ao ácido carbônico (H_2CO_3), onde o sistema químico considerado é composto por $\text{CaCO}_3 - \text{CaMg}(\text{CO}_3)_2 - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}_2$.

A acidificação da água meteórica ocorre principalmente no solo por conta da degradação de matéria orgânica e pela respiração de plantas por meio das raízes. Ambos processos liberam CO_2 no solo, que se dissolve na água infiltrada e produz o ácido carbônico. Também pode ocorrer a acidificação da água na atmosfera pelo contato entre a água meteórica e o gás carbônico disponível no ar, porém esta forma de acidificação compreende uma parcela muito reduzida quando comparado à produção de ácido carbônico no solo. Ford e Williams (2007) mostram que os valores de pCO_2 pode variar de cerca de 0,03% na atmosfera para 5 a 20% no solo. O resumo deste sistema hidroquímico cárstico pode ser visualizado na Figura 11.

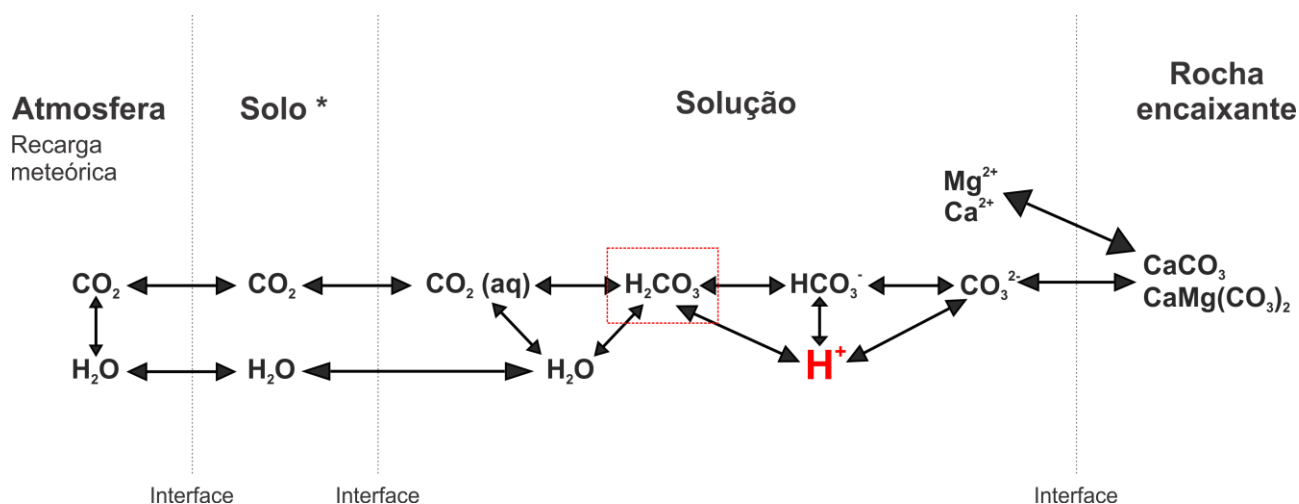


Figura 11. Fluxograma representando o sistema químico $\text{CaCO}_3 - \text{CaMg}(\text{CO}_3)_2 - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}_2$. Modificado de Bögli (1980). Solo * - CO_2 presente no solo abrange CO_2 de origem atmosférica, da degradação de matéria orgânica e respiração de vegetais.

Uma vez produzido o ácido carbônico no sistema a água meteórica acidificada infiltra na rocha principalmente através da porosidade secundária, como superfícies de fraturas, falhas ou do

acumulação (onde este representa uma descontinuidade). Ao longo da percolação da água por estes planos, a água dissolve o carbonato de cálcio presente na rocha, até que toda a acidez seja neutralizada. Este processo transforma parte da porosidade secundária em porosidade terciária, gerando um sistema de condutos (aquífero de condutos), onde uma pequena fração deste sistema pode evoluir a ponto de se tornarem cavernas.

O sistema hidroquímico apresentado na Figura 11, representa ao sistema $H_2O - CO_2 - CaCO_3$, o qual atinge a saturação em relação a $CaCO_3$ rapidamente, ou seja, nos primeiros metros de infiltração no sistema fraturado da rocha carbonática (Ford e William 1989). Desta forma se fez necessária uma explicação química para a presença de águas insaturadas em carbonato de cálcio em grandes profundidades, gerando feições de dissolução no freático a dezenas ou centenas de metros da zona epicárstica.

A formação de acidez em profundidade poderia ser explicada por uma diminuição considerável da temperatura da água subterrânea, elevando o grau de insaturação da solução. Outro fenômeno que pode fornecer agressividade a água em profundidade é a corrosão de misturas, em que a mistura de duas águas saturadas em $CaCO_3$, com diferentes concentrações de CO_2 e $CaCO_3$ dissolvidos produzem uma solução insaturada. Este fenômeno é visualizado na figura 12, onde as curvas representam a concentração de saturação em calcita, W1 e W2 representam duas águas com concentrações de saturação muito diferentes e a linha entre estas representa a mistura, cujo grau de insaturação gerado varia conforme as proporções das partes da mistura. Para que este processo ocorra no sistema cárstico são necessárias a geração de águas saturadas com concentrações de saturação muito diferentes para que a insaturação produzida na mistura seja relevante em termos de espeleogênese, o que é pouco provável na natureza (Bögli, 1980; Gabrovšek e Dreybrodt, 2000). Na modelagem deste sistema químico, Gabrovšek e Dreybrodt (2000) aliaram a corrosão de mistura aos mecanismos de cinética química da reação de dissolução de $CaCO_3$ por ácido carbônico, e conseguiram modelar a formação de capilares e protocondutos em profundidade para contribuir na elucidação da formação de condutos em profundidade.

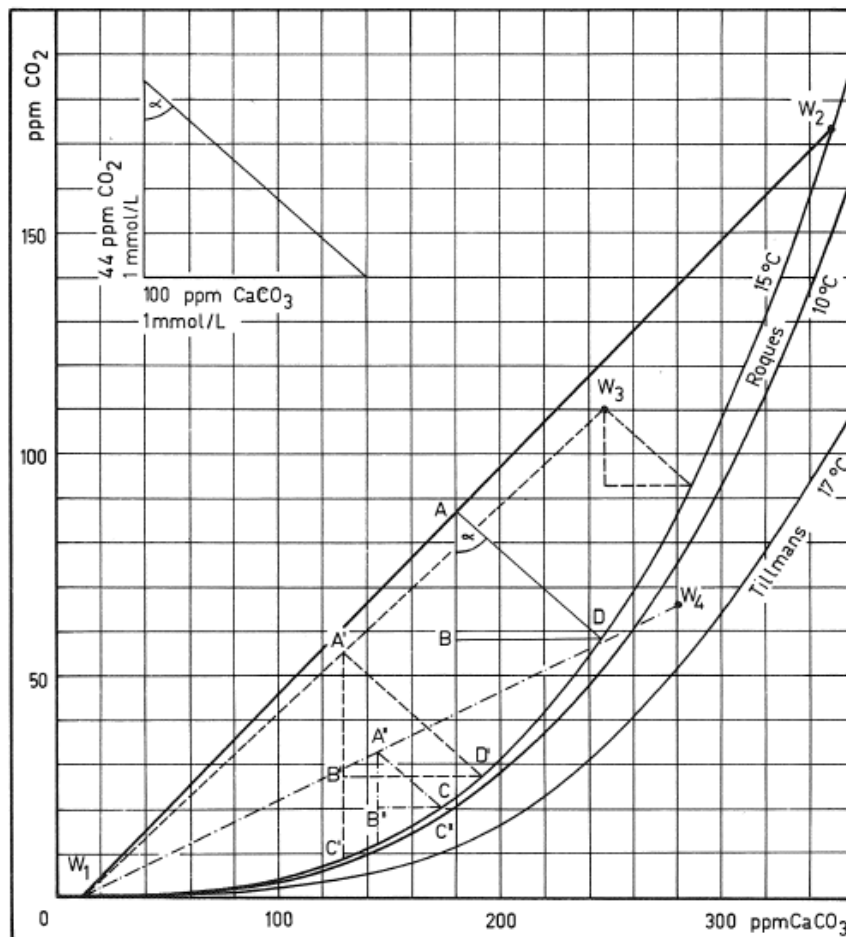


Figura 12. Determinação da agressividade da mistura de águas segundo Bögli (1964a, 1964b, 1964c, 1971), retirado de Bögli (1980)

Alternativamente ao modelo de corrosão de misturas, é proposto um agente corrosivo diferente do ácido carbônico: o ácido sulfúrico. O estudo do H_2SO_4 como agente corrosivo na espeleogênese começou na década de 1980 (Ford e Willians, 1989), a partir do qual este ácido passou a integrar o sistema hidrogeoquímico em alguns sistemas cársticos (Figura 13), sendo a principal fonte do enxofre para formação do ácido o sulfeto de hidrogênio gasoso (H_2S), associado a depósitos de hidrocarbonetos e os sulfetos metálicos como a galena, pirita, esfalerita e calcopirita (PbS , FeS_2 , ZnS e $FeCuS_2$) disseminados na rocha encaixante ou concentrados por algum processo mineralizador.

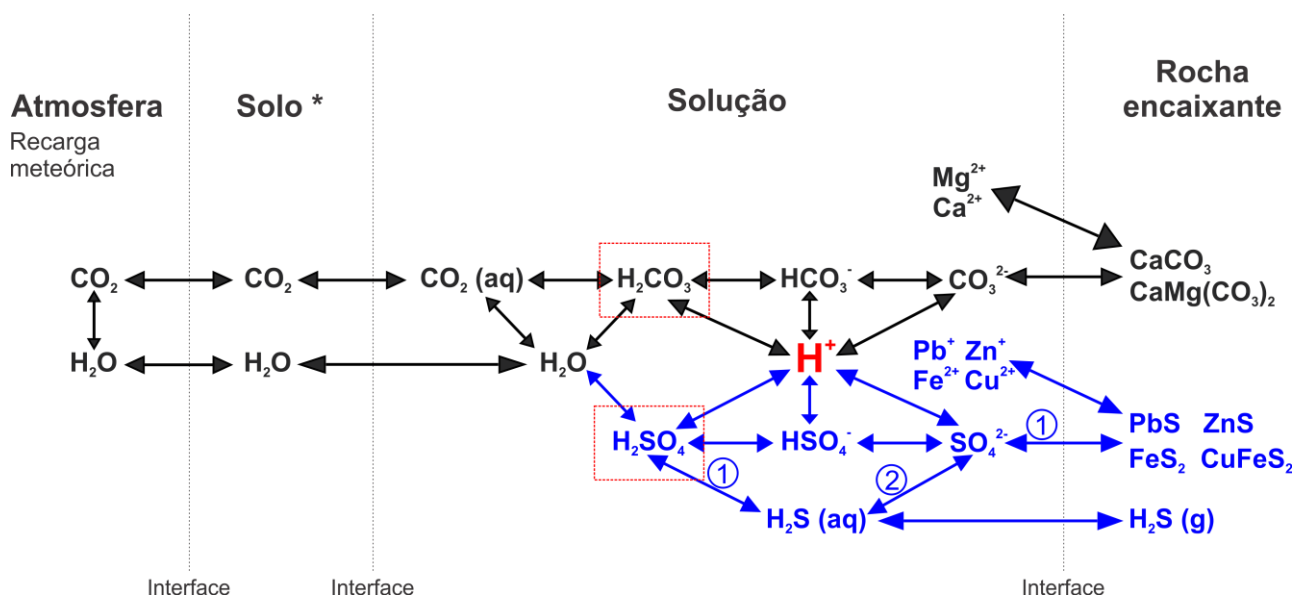


Figura 13. Fluxograma representando o sistema químico CaCO_3 - $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ - H_2O - CO_2 - H_2S - MS, sendo MS os sulfetos metálicos. Modificado de Bögli (1980). Solo * - CO_2 presente no solo abrange CO_2 de origem atmosférica, da degradação de matéria orgânica e respiração de vegetais; (1) Reações de oxidação (2) Reação de redução, ambas através de metabolismo microbiano.

As cavernas em rochas carbonáticas são classificadas em dois tipos principais: epigênicas ou hipogênicas, conforme a origem da recarga e o agente corrosivo associado. As cavernas epigênicas são tradicionalmente formadas pela acidificação da água meteórica, por ácido carbônico, em superfície e no epicarste, com posterior infiltração e percolação pela rocha. As cavernas hipogênicas estão relacionadas à águas hidrotermais ou águas com conteúdo de sulfeto de hidrogênio e recarga do aquífero carbonático através de injeção profunda (Ford e Williams, 1989). A hidroquímica de ambos sistemas apresenta o hidrogenocarbonato como um dos ânions principais e, cálcio e magnésio como principais cátions, sendo que se diferenciam pela presença do anion sulfato em altas concentrações, fato comum em aquíferos cársticos hipogênicos..

No entanto, altas concentrações de sulfato em águas da zona freática cárstica não necessariamente estão relacionadas à ação do ácido sulfúrico. Worthington e Ford (1995) compilaram e analisaram dados hidroquímicos de 404 nascentes em calcários mostrando que o sulfato pode ter como origem a presença de gipsita e anidrita, de depósitos evaporíticos na rocha encaixante.

No Brasil são descritos dois sistemas de cavernas principais com gênese hipogênica, as cavernas de Vazante, MG dispostas no Grupo Vazante (Bittencourt e Neto, 2012) e as duas maiores cavernas brasileiras, Toca da Boa Vista e Toca da Barriguda (Auler e Smart, 2003; Klimchouk et al., 2016), localizadas no município de Campo Formoso. No caso de Vazante, Bittencourt e Neto (2012) sugerem a hipogênese por meio da observação de feições morfológicas, tendo como parâmetro as descrições de morfologias de cavernas hipogênicas de Klimchouk (2007) como a presença de cúpulas de teto que podem ser indicativas de fluxo ascendente, porém não é explicado qual o agente

corrosivo envolvido na formação dessas cavernas. Nas cavernas de Campo Formoso, Auler e Smart (2003) propõem que o agente corrosivo envolvido na espeleogênese é o ácido sulfúrico, porém não é dada uma explicação da origem deste ácido no sistema, sendo sugerida a oxidação da pirita presente na rocha encaixante.

Um exemplo clássico de cavernas as quais se formaram sob a ação do ácido sulfúrico são as cavernas de Carlsbad, no Novo México, EUA. Hill (1987) demonstra a ação desse ácido na formação destas cavernas, apresentando um modelo de espeleogênese com as características morfológicas e os depósitos minerais de associados a este tipo de . Em 1995, Hill detalha o trabalho anterior apresentando os processos geradores do H_2SO_4 em profundidade apresentando um estudo detalhado da ação de bactérias que metabolizam o enxofre a fim de tornar os sulfetos disponíveis no sistema em ácido sulfúrico.

O ácido sulfúrico que deu a origem as cavernas de Carlsbad, foi formado a partir da oxidação de H_2S gasoso (sulfeto de hidrogênio) disponível no sistema associado a depósitos de hidrocarbonetos (Hill, 1995) em rochas pelíticas subjacentes aos calcários. A formação deste ácido em sistemas cársticos pode estar relacionado também à oxidação de sulfetos metálicos como a pirita, porém a oxidação desse mineral por processos inorgânicos é lenta e sua distribuição na maior parte dos caso está muito disseminada na rocha e, portanto, dificilmente ocasionaria a formação de grandes cavidades (Palmer, 1991). Dessa forma entende-se a necessidade de um meio de concentração dos sulfetos metálicos como o hidrotermalismo e/ou ação orgânica na oxidação dos minerais.

No caso das cavernas da Chapada Diamantina, Iraquara, BA, foram estudadas as bactérias do gênero *Thiobacillus*, as quais obtêm energia a partir da oxidação de enxofre em formas reduzidas, como os sulfetos disponíveis na rocha, tendo como produto final para a maior parte dos casos, o sulfato (Valle, 2004). Outras bactérias mencionadas no trabalho de Valle são as bactérias redutoras de sulfato, pertencentes aos gêneros *Desulfovibrio* e *Desulfomaculum* e que transformam o sulfato em sulfeto de hidrogênio (H_2S). Este composto, por sua vez, pode ser oxidado novamente pelas bactérias do gênero *Thiobacillus* tendo como produto final o ácido sulfúrico (Valle, 2004). As transformações químicas realizadas pelos micro-organismos oxidantes de enxofre podem ser observadas na Figura 13 indicada com o número (1), enquanto a reação de sulfato para sulfeto de hidrogênio promovida por organismos redutores está indicada com o número (2).

Konhauser (2007) divide os micro-organismos oxidantes de enxofre em duas classe principais, sendo que uma delas os gêneros *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiovulum*, *Thiomicrospira* e *Thioploca*, os quais podem ser encontrados em nascentes sulfurosas, águas contaminadas por esgotos e águas marinhas pouco oxidadas. A segunda classe e mais relevante para este projeto é composta pelos gêneros *Acidithiobacillus*, *Sulfolobus* e *Acidianus* os quais são os melhores alvos para entender a formação do H_2SO_4 em profundidade.

Considerando a litologia dos sistemas estudados procura-se entender as formas de oxidação de sulfetos disseminados encontrados como a pirita e a galena. Konhauser (2007) coloca a pirita como o sulfeto metálico mais importante ambientalmente por ser muito comum e diferencia a oxidação mineral em processos de oxidação do enxofre e em processos de oxidação do ferro. Assim a presença de bactérias com atividade metabólica ligada ao ferro também podem ser importante para a formação do ácido sulfúrico no sistema, como é o caso da *Thiobacillus ferrooxidans* (Auler e Smart, 2003; Valle, 2004).

6 METODOLOGIA

6.1 Hidroquímica

6.1.1 Dados disponíveis na literatura

Como fonte principal de dados hidroquímicos para a base do trabalho, foram utilizados dados da literatura disponível, bem como de pesquisas em andamento e de agências governamentais. Em Iraquara foi consultada a tese de doutorado de Valle (2004), em São Desidério foram utilizados dados inéditos referentes ao trabalho de doutorado de Godinho (em andamento) juntamente com o relatório da Agência Nacional de Águas (2017) e em Iporanga foram utilizados dados do doutorado de Karmann (1994). Também foram utilizados dados do Sistema de Informações de Águas Subterrâneas - SIAGAS, através da plataforma digital da CPRM.

6.1.2 Amostragem e coleta de dados

Em trabalho de campo foram feitas coletas de águas de rios, poços de abastecimento. Para tais coletas foram seguidas as normas NBR 9898 (ABNT, 1987) e NBR 15847 (ABNT, 2010).

Foi utilizada a sonda multiparâmetro da Hanna após devida calibração dos eletrodos segundo as especificações do fabricante para obtenção de medidas de parâmetros físico-químicos (temperatura, pH, ORP e condutividade elétrica) das águas coletadas. O teor de hidrogenocarbonato (HCO_3^-) é determinado em campo através de titulação acidimétrica por meio de um titulador automático.

6.1.3 Análise de dados e tratamento estatístico

A análise de cátions e ânions das águas amostradas está sendo realizada pelo Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN - USP utilizando o ICP-MS.

Para o tratamento dos dados hidroquímicos e cálculo de parâmetros derivados (Índices de saturação em relação à calcita, dolomita, gipsita e balanço iônico), foram utilizados os *softwares* AquaChem e Phreeqc. Também foi utilizado o software OriginPro para o tratamento estatístico de dados hidroquímicos e confecção de gráficos.

6.2 Microbiologia

6.2.1 Amostragem

O procedimento de amostragem para microbiologia, consistiu na coleta de 5 litros de água em um galão previamente esterilizado, seguido da filtragem de toda a água coletada em membranas filtrantes (Millipore) de 0,22 µm. Todo o material particulado maior que 0,22 µm, incluindo os micro-organismos, fica retido na membrana que é posteriormente armazenada em crio-tubos e, por fim, o volume completado com o reagente RNeasy Lysis Solution (Thermo Fisher Scientific, USA) que impede a degradação do material genômico na amostra. O passo seguinte é o congelamento dos frascos à -20°C, permanecendo assim durante o transporte até ser analisado no Lab de Ecologia de Micro-organismos do IOUSP.

6.2.2 Extração de DNA e sequenciamento do gene 16S RNA ribossomal

O material genômico foi extraído utilizando o kit de extração de DNA PowerWater (MoBio, Carlsbad, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. O DNA extraído foi purificado usando o kit “OneStep™ PCR Inhibitor Removal Kit” (Zymo Research, Irvine, CA, EUA) e em seguida quantificado usando o Qubit dsDNA HS Assay (Thermo-Fisher Scientific, EUA). Construção das bibliotecas e o sequenciamento foram terceirizados e realizados pela empresa MR DNA (Molecular Research LP, Shallowater, TX, EUA), a partir da amplificação gene 16s do RNA ribossomal com os primers 515F (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) e 806R (GGACTACNVGGGTWTCTAAT) (Caporaso *et al.*, 2011), seguindo o protocolo Earth Microbiome Project (Thompson *et al.*, 2017). O sequenciamento foi feito usando a plataforma Illumina MiSeq 2500.

6.2.3 Processamento de dados do sequenciamento e análises estatísticas

As sequências brutas foram filtradas para o comprimento (>250 pb), usando o algoritmo USEARCH (Edgar, 2010). Após a remoção das quimeras pelo algoritmo UCHIME (Edgar *et al.*, 2011), as sequências foram clusterizadas em unidades taxonômicas operacionais (OTUs). A classificação taxonômica e análises de diversidade foram realizadas por meio do Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) 1.8.0 pipeline (Caporaso *et al.*, 2010). A classificação taxonômica foi desenvolvida a partir da base de dados SILVA 128 (Quast *et al.*, 2013 e Yilmaz *et al.*, 2014). A análise de Beta-diversidade foi examinada através da escala multidimensional não-métrica (non-metric multidimensional scaling - nMDS), calculada através do método UNIFRAC de distanciamento estatístico. Os resultados obtidos pelo nMDS foram correlacionados aos parâmetros físico-químicos através da função envfit do pacote vegan (Oksanen *et al.*, 2013) pertencentes ao software estatístico R.

7 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 Trabalho de campo

Para o desenvolvimento do projeto foram realizados dois trabalhos de campo, o primeiro nos dias 15 a 22 de janeiro de 2018, em que foram visitados pontos de amostragem em cavernas e de poços de abastecimento em Iraquara e São Desidério, Bahia. O segundo campo ocorreu nos dias 24 e 25 de fevereiro de 2018 ano no Bairro da Serra em Iporanga, São Paulo (Tabela 1).

Na primeira etapa de campo em Iraquara foram visitadas 4 localidades nas quais foram feitas coletas tanto em lagos de cavernas quanto em poços de abastecimento público.

Gruta Lapa Doce: Foram feitas coletas apenas no setor não turístico da caverna, em dois pontos diferentes, sendo estes um pequeno lago onde antigamente era feita a retirada da água por meio de uma bomba que ainda se encontra no local e o segundo ponto em um lago (Figura 14) com cerca de 30 m de diâmetro de localizado no ponto mais distal da caverna.



Figura 14. Ponto de coleta IR_04 em lago na Gruta Lapa Doce, Iraquara, BA. Foto: Ataliba Coelho, Projeto Luzes na Escuridão.

Cochó do Malheiros: O povoado de Cochó do Malheiros está localizado no município de Seabra, BA a 26 km da cidade, na metade do caminho para Iraquara. Todo o abastecimento de água do povoado de Cochó do Malheiros e Baraúnas do Cochó (povoado vizinho) provém de um único poço sob o código CERB 1-778/78 no cadastro SIAGAS (CPRM, 2018). Foram feitas duas coletas neste poço, a primeira (IR_02) em uma residência do povoado e a segunda vez (IR_07) diretamente do poço. Valle (2004) também realizou uma coleta neste poço e os resultados hidroquímicos mostram um valor de sulfato abaixo do esperado. Observando o perfil construtivo do poço é possível notar que a seção filtrante abrange não apenas rochas carbonáticas (figura 15 e 20), sendo este um possível fator para os dados hidroquímicos obtidos.

Feição Geomorfológica:			
Descrição:			
Formação Geológica:			
Profundidade Inicial (m):		Profundidade Final (m):	Tipo de Formação:
0.00		4.00	Eluvio
4.00		82.00	Grupo bambui
Dados Litológicos:			
De (m):		Até (m):	Litologia:
0		4	Solo argiloso
4		11	Calcário
11		17	Calcário
17		28	Calcário
28		70	Calcário
70		82	Calcário
82		108	Conglomerado
108		121	Ardósia
121		144	Quartzito
144		173	Quartzito
Descrição Litológica:			
SOLO ARGILOSO, VERMELHO TIJOLO.			
CALCARIO DECOMPOSTO, COR VARIEGADA.			
CALCARIO ALTERADO, AMARELADO.			
CALCARIO CINZA, FRAGMENTACAO GROSSA.			
CALCARIO CINZA, FRAGMENTACAO MEDIA.			
CALCARIO AMARRONZADO, FRAGMENTACAO FINA A MEDIA.			
CONGLOMERADO POLIMITICO, COM MATRIZ SILICOSA, AMARRONZADA, FRAGMENTACAO FINA.			
ARDOSIA DE COR VARIEGADA, FRAGMENTACAO MEDIA A MUITO GROSSA.			
QUARTZITO, BEM RECRISTALIZADO, AMARRONZADO, FRAGMENTACAO FINA.			
QUARTZITO, BEM RECRISTALIZADO, CINZA, FRAGMENTACAO FINA A MEDIA.			

Figura 15.. Tabelas com dados litológicos da perfilagem do poço do Cochó do Malheiros (CPRM, 2018).

Gruta Azul: A caverna consiste em uma das entradas da Gruta Pratinha. A coleta dentro da caverna foi feita no lago (Figura 16) dentro da caverna próximo à entrada, porém além da visão permitida pela passarela turística. Foi feita a coleta de água para análise de cátions e ânions e a coleta microbiológica de água e de sedimento lamoso. Este ponto foi o único em que foi amostrado sedimento para análise microbiológica por recomendações do Murilo Valle que obteve bons resultados no trabalho de doutorado (Valle, 2004). Para este trabalho, porém não foi possível apresentar os resultados do sequenciamento do DNA.

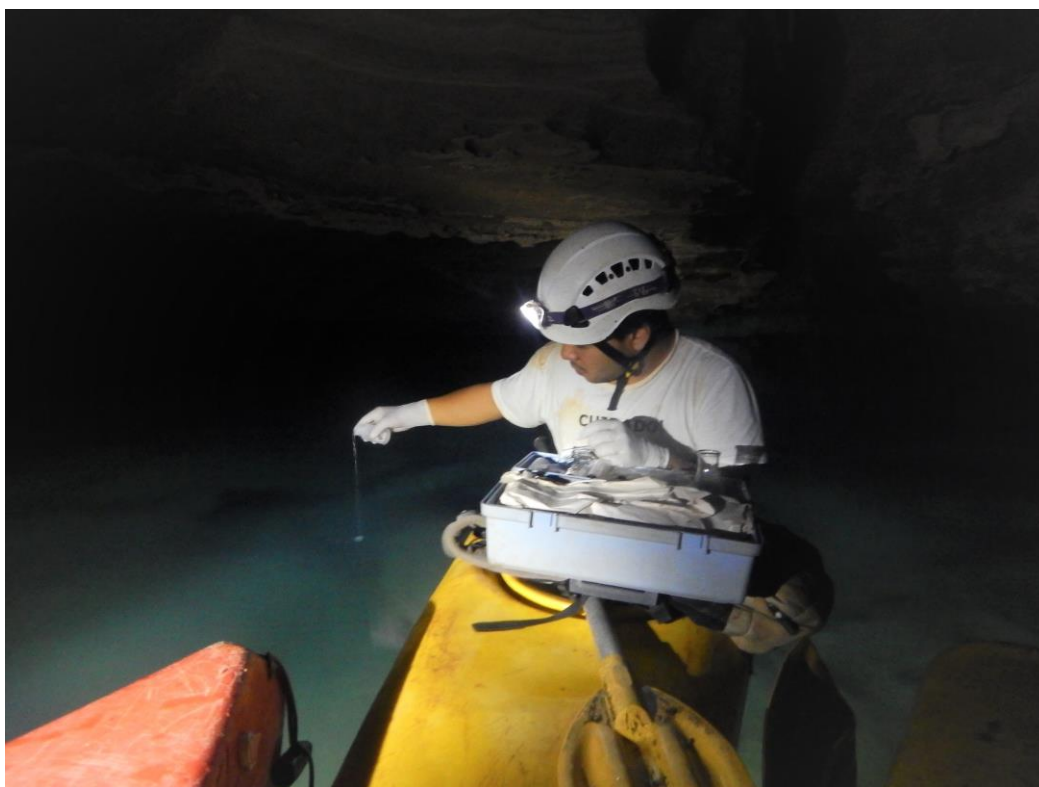


Figura 16. Procedimento de amostragem de água para análise de cátions e ânions do lago da Gruta Azul. Foto: Lucas Godinho.

Lagoa Preta: O povoado de Lagoa Preta está localizado no município de Mulungu do Morro e consiste desde o início do trabalho como um dos principais alvos de pesquisa, tendo em vista que no banco de dados hidroquímicos de Valle (2004) as amostragens do poço de abastecimento local apresentam os maiores valores para sulfato variando entre 587,20 a 824,06 mg/L de SO_4^{2-} . Observou-se que a água apresenta um forte odor de enxofre, que é liberado pela presença de H_2S na água. No trabalho de campo de janeiro de 2018 não foi possível coletar água do mesmo poço coletado por Valle (2004) pois este havia sido tamponado. Dessa forma foram coletadas amostras de água para análise dos íons e microbiologia de dois poços instalados em uma mesma propriedade particular para abastecimento agrícola. Não havendo dados construtivos e geológicos do poço em bancos de dados, os dados construtivos do poço disponíveis foram fornecidos pelo superficiário. O primeiro poço do qual foi feita a coleta (IR_05 – Figura 17) tem uma profundidade aproximada de 180 metros com a bomba locada a cerca de 120 metros de profundidade. O morador local não tinha informações precisas da profundidade do poço correspondente ao ponto IR_06, informando que tinha uma profundidade similar ao primeiro, porém menos profundo.



Figura 17. Foto de poço para irrigação em propriedade privada. Ponto IR_05. Foto Tom Morita.

A segunda etapa do campo aconteceu em São Desidério, BA em que foram visitados quatro pontos.

Gruta do Catão: A Gruta do Catão é uma caverna turística localizada no município de São Desidério dentro do Parque Municipal da Lagoa Azul e integra o Sistema de Cavernas do Rio João Rodrigues (SCRJR). A coleta de água foi realizada no Rio João Rodrigues próximo à entrada da caverna.

Nascente do João Rodrigues: Consiste na nascente do Rio João Rodrigues, a partir do qual se desenvolve o SCRJR. A nascente está localizada geologicamente na região do contato entre o arenito do Grupo Urucuia e o calcário da Formação São Desidério.

Poço do Surubin: na ressurgência final do Rio João Rodrigues, logo antes de encontrar com o Rio São Desidério.

Poço da Tiririca: Este ponto corresponde a um dos mais interessantes para amostragem em São Desidério por apresentar valor mais altos (cerca de 18,5 mg/L) de sulfato em comparação com a média dos resultados analíticos das demais amostragens (2,0 mg/L) feitas por Godinho (2017). O poço serve para abastecimento dos animais e plantação de uma propriedade. A bomba do poço é instalada a 36 m de profundidade e tem sua área filtrante disposta inteiramente dentro de rochas carbonáticas (CPRM, 2018 – Figura 18 e 21).

Feição Geomorfológica:				
Descrição:				
Formação Geológica:				
Profundidade Inicial (m):		Profundidade Final (m):	Tipo de Formação:	
0.00		23.00	Formação Urucua	
23.00		34.00	Grupo bambuí	
Dados Litológicos:				
De (m):		Até (m):	Litologia:	Descrição Litológica:
0		2	Solo arenoso	SOLO ARENO SILTOSO, AVERMELHADO.
2		23	Arenito fino	ARENITO CINZA AVERMELHADO, COM GRANULOMETRIA FINA.
23		34	Calcário com fragmentação grossa	CALCÁRIO CINZA ESCURO, COM FRAGMENTAÇÃO GROSSEIRA.

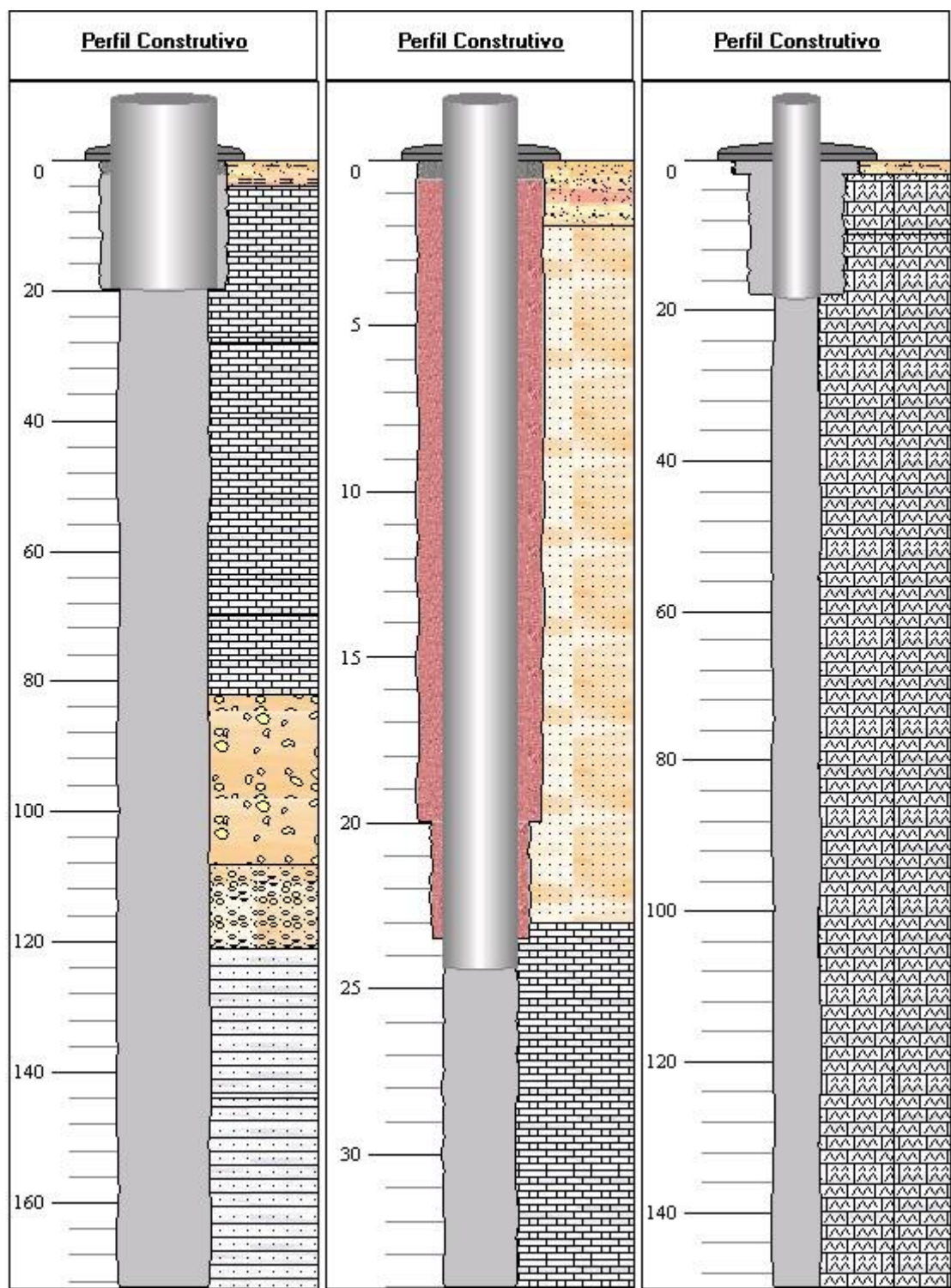
Figura 18. Tabelas com dados litológicos da perfilagem do poço da Tiririca (CPRM, 2018).

O trabalho de campo para o Bairro da Serra em Iporanga, São Paulo aconteceu nos dias 24 a 25 de fevereiro de 2018 e contou com um ponto de amostragem.

Bairro da Serra: O ponto de amostragem é o poço para abastecimento público da SABESP localizado no Bairro da Serra no município de Iporanga (figura 22) próximo ao rio Betari. O poço tem profundidade de 145 m e tem toda sua perfuração feita no calcário (figura 19). Este ponto de coleta de água não corresponde, porém, ao poço do Bairro da Serra em que foram coletadas amostras de água por Karmann (1994), uma vez que este poço antigo foi tamponado e inutilizado.



Figura 19. Poço da SABESP (IP_01) no Bairro da Serra. Foto Tom Morita.



Figuras 20, 21 e 22 (da esquerda para a direita). Perfis construtivos dos poços: Cochó de Malheiros (IR_07 - esquerda), Tiririca (SD_M04 - centro), Bairro da Serra (IP_01 - direita). Retirados de CPRM (2008).

Todos os pontos de coleta, bem como a destinação das coletas realizadas encontram-se dispostos na Tabela 1 e os parâmetros físico-químicos medidos em campo por meio de uma sonda multiparâmetro e a alcalinidade medida com um titulador automático estão dispostos na Tabela 2.

Ponto	Localidade	Município	UTM E	UTM N	Zona	Amostragem
IR_01	Lapa Doce II (Antiga bomba de água)	Iraquara, BA	216742	8635210	24L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IR_02	Cochó do Malheiros (Residência)	Seabra, BA	212938	8623274	24L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IR_03	Gruta Azul (Pratinha)	Iraquara, BA	223462	8633363	24L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IR_04	Lapa Doce II (Lago)	Iraquara, BA	216742	8635210	24L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IR_05	Lagoa Preta	Mulungu do Morro, BA	213780	8682886	24L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IR_06	Lagoa Preta	Mulungu do Morro, BA	213699	8682770	24L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IR_07	Cochó do Malheiros (Poço)	Seabra, BA	213576	8623732	24L	Microbiologia
SD-M01	Gruta do Catão	São Desidério, BA	514430	8632736	23L	Microbiologia
SD-M02	Nascente João Rodrigues	São Desidério, BA	516632	8630926	23L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
SD-M03	Poço do Surubin	São Desidério, BA	505267	8628232	23L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
SD-M04	Poço da Tiririca	São Desidério, BA	514737	8634367	23L	Água (cátions e ânions) / Microbiologia
IP_01	Bairro da Serra	Iporanga, SP	735080	7282616	22J	Água (cátions e ânions) / Microbiologia

Tabela 1. Pontos de amostragem em campo.

Parâmetros físico-químicos									
Ponto	Data	T ar (°C)	T (°C)	pH	ORP (mV)	OD (%)	CE (µS/cm)	TDS (ppm)	HCO ₃ ⁻ (mg/L)
IR_01	17/01/2018	-	21,75	7,37	42,0	37,8	597	299	156,4
IR_02	18/01/2018	26,10	28,74	7,12	22,6	62,9	335	179	48,0
IR_03	18/01/2018	26,15	25,70	7,41	53,4	65,4	559	275	150,4
IR_04	18/01/2018	-	24,03	7,30	46,6	49,7	577	289	164,8
	18/01/2018	-	24,04	7,30	50,4	52,2	577	289	-
IR_05	19/01/2018	25,30	25,03	6,60	-225,5	5,4	2864	1428	284,8
IR_06	19/01/2018	-	26,18	6,70	-112,9	22,3	3166	1583	230,0
IR_07	19/01/2018	-	23,88	7,33	-65,8	45,2	281	140	-
SD-M01	21/01/2018	26,20	27,40	7,42	43,6	59,3	511	255	-
SD-M01	02/02/2018	29,09	-	7,87	20,3	71,2	498	249	178,0
SD-M02	21/01/2018	29,15	26,42	7,16	44,9	18,5	550	275	85,0
SD-M03	01/02/2018	24,92	26,49	7,70	27,1	78,5	480	240	190,0
SD-M04	01/02/2018	25,94	27,09	7,20	13,8	20,8	505	225	260,0
IP_01	25/02/2018	29,30	20,95	9,66	40,7	37,9	298	149	84,0

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos coletados em campo.

7.2 Hidroquímica

Tendo como base os dados hidroquímicos disponíveis em Karmann (1994) e Valle (2004), dados referentes ao trabalho de doutorado de Godinho (2017), ao relatório da ANA (2017) e dados de poços disponíveis pela plataforma SIAGAS (CPRM, 2018), foram feitas comparações entre o aquífero carbonático de Iraquara e São Desidério, BA e Iporanga, SP a partir de amostras coletadas na zona freática. Os dados analíticos hidroquímicos das amostragens feitas durante o trabalho de campo em janeiro e fevereiro de 2018 não puderam ser utilizados neste trabalho, pois ainda não foram recebidos os resultados completos por questões técnicas do equipamento do laboratório. Dessa forma o trabalho usou como base comparativa os dados disponíveis na bibliografia citada.

A amostragem de água da zona freática nas regiões de estudo é feito por meio de poços, em rios ou lagos em cavernas ou em nascente cársticas. Para efeito comparativo foram

desenvolvidos diagramas de Piper com o intuito de classificar as águas encontradas nas três localidades.

7.2.1 Iraquara

A região de Iraquara de modo geral se destaca entre as três áreas de estudo como a mais diferente hidroquimicamente. Por meio da utilização de um diagrama de Piper (Figura 23), é possível identificar que os dados relativos às amostragens de Iraquara são os com maior dispersão entre as três regiões estudadas, sendo classificados como bicarbonatadas cálcicas e bicarbonatadas sulfatadas.

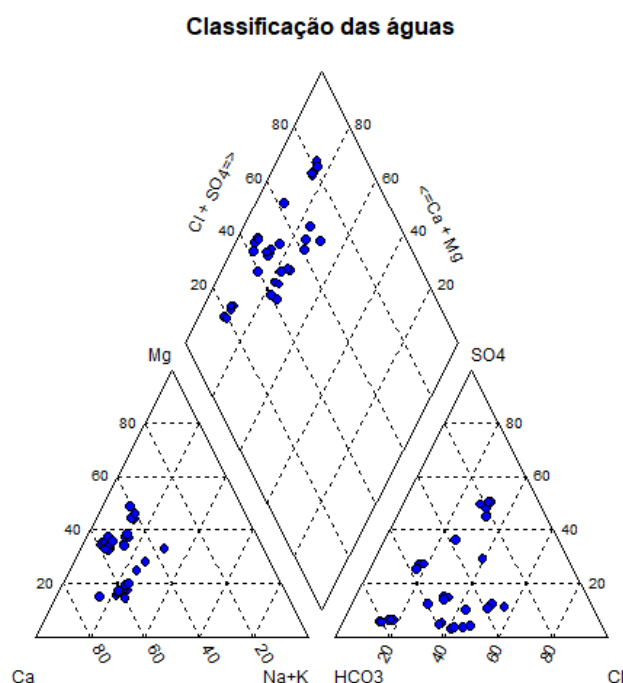


Figura 23. Diagrama de Piper para os dados hidroquímicos de Iraquara, BA. Dados de Valle (2004) e CPRM (2018).

Além da classificação das águas freáticas amostradas, também foram gerados gráficos que indicam a correlação entre alguns dos ânions mais importantes dentro do sistema cárstico sendo estes o hidrogenocarbonato (HCO_3^-), sulfato (SO_4^{2-}) e a somatória dos cátions cálcio e magnésio ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$). Tendo em vista o sistema hidroquímico clássico ($\text{CaCO}_3 - \text{CaMg}(\text{CO}_3)_2 - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}_2$) citado anteriormente, temos base para, a partir deste gráfico começar a interpretar qual ou quais seriam as fontes corrosivas do para o carste em Iraquara.

Na Figura 24 nota-se visualmente que não há uma boa correlação entre o ânion hidrogenocarbonato e a somatória $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$. Este dado é confirmado com o cálculo do coeficiente de correlação linear Pearson (r) com valor igual a 0,37. Este resultado indica que a concentração dos ânions cálcio e magnésio dissolvidos na água, oriundos da rocha encaixante não está

diretamente relacionada com a concentração do hidrogenocarbonato oriundo do agente corrosivo (ácido carbônico - H_2CO_3), isso tendo em vista todas as amostragens feitas na região de Iraquara.

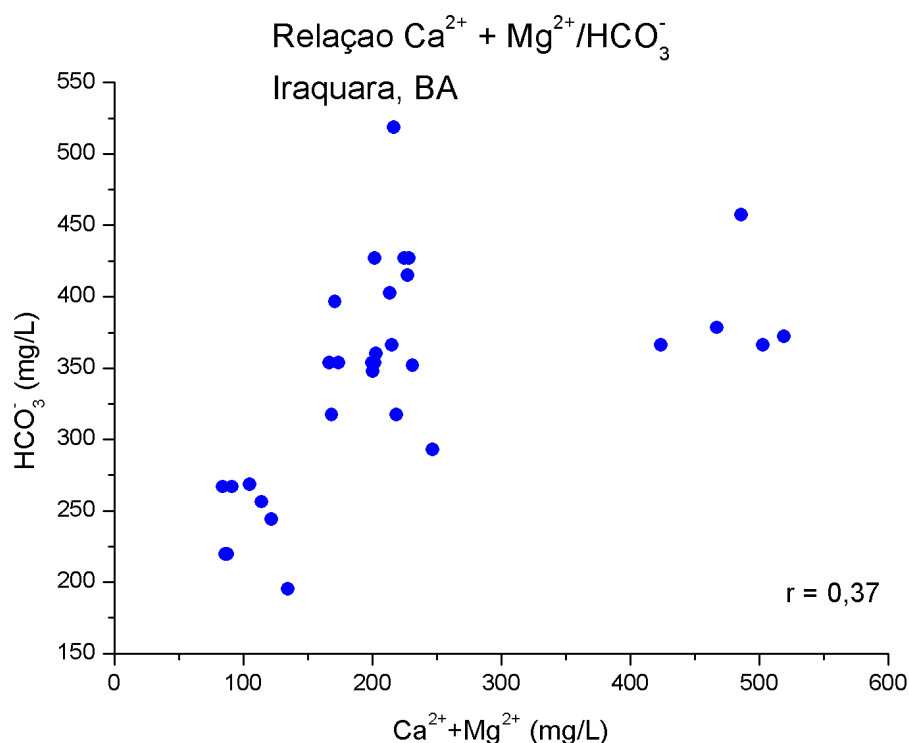


Figura 24. Gráfico de relação entre HCO_3^- e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para a região de Iraquara, BA. Dados de Valle (2004) e CPRM (2018).

O mesmo gráfico pode ser feito para analisar a correlação entre o sulfato, cuja origem está relacionada com o sistema hidroquímico do ácido sulfúrico, com a somatória dos mesmos cátions. Como pode ser visto na Figura 25, o coeficiente de Pearson encontrado para estes dados da região de Iraquara é igual a 0,95, indicando que deve haver relação causal entre a presença de enxofre com a presença dos cátions dissolvidos na água. Assim, suspeita-se que o carste de Iraquara tenha como agente corrosivo complementar o ácido sulfúrico (H_2SO_4), sendo este o responsável pela solubilização dos minerais carbonáticos, liberando o cálcio e magnésio em sua forma iônica, na água.

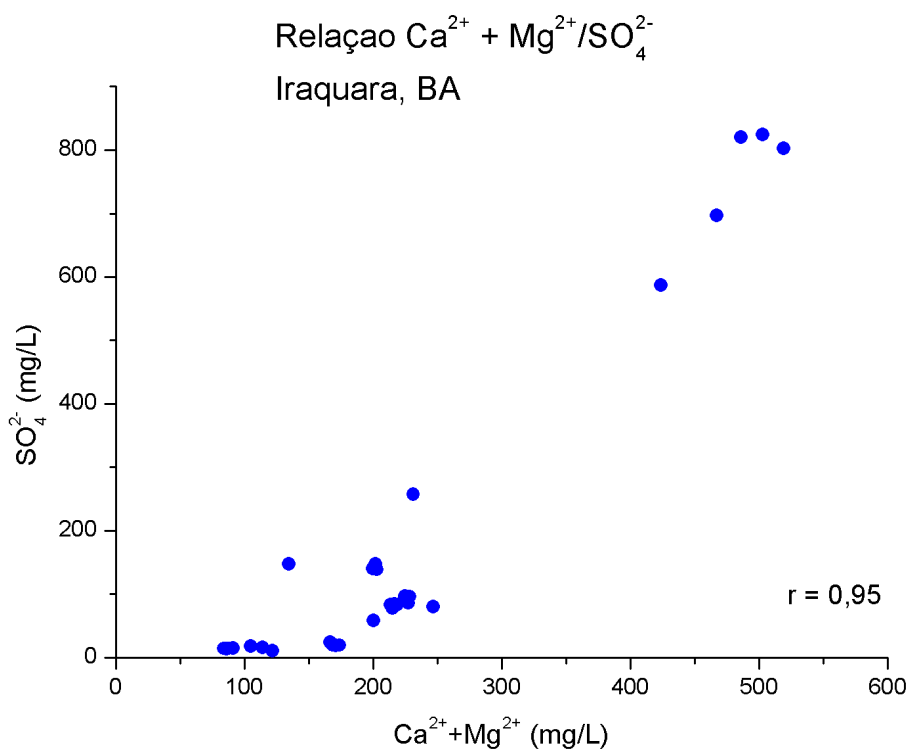


Figura 25. Gráfico de relação entre SO_4^{2-} e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para a região de Iraquara, BA. Dados de Valle (2004) e CPRM (2018).

Nas Figuras 24 e 25 é possível identificar que ocorrem duas populações hidroquímicas distintas, sendo uma das populações marcadas por altos valores de SO_4^{2-} e $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$. Estes valores correspondem às coletas de água feitas por Valle (2004) no Povoado de Lagoa Preta no município de Mulungu do Morro, sendo que esta localidade se mostra como um importante ponto de estudo para microbiológico e hidroquímico.

7.2.2 São Desidério

As águas coletadas em São Desidério, foram classificadas utilizando o diagrama de Piper (Figura 26) como uma água bicarbonatada cálcica. Os dados plotados no diagrama demonstram que dentro da classificação da água ocorre uma dispersão dos pontos que apresentam algumas variações composicionais.

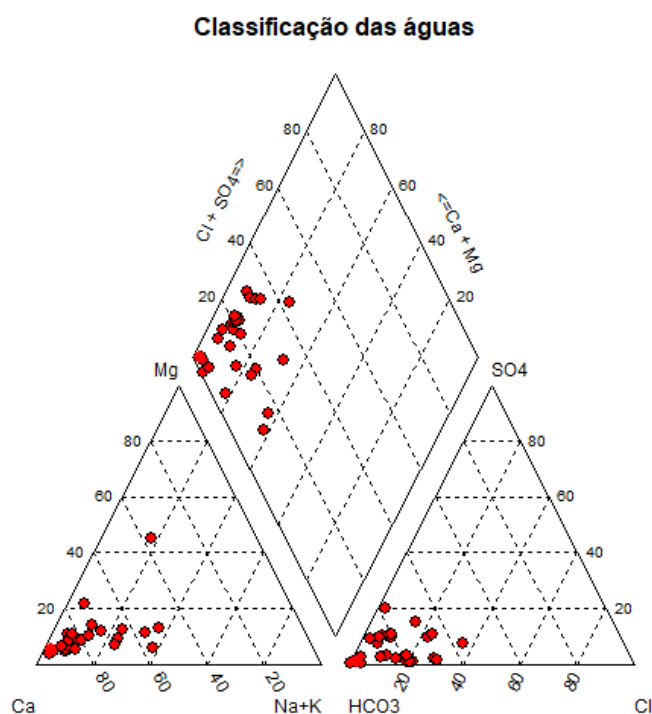


Figura 26. Diagrama de Piper para os dados hidroquímicos de São Desidério, BA. Dados de Godinho (2017) e ANA (2017).

Também foram analisadas as possíveis correlações iônicas presentes no sistema hidrogeoquímico cárstico de Iraquara. A Figura 27 indica que a correlação entre o hidrogenocarbonato e a somatória dos cátions cálcio e magnésio é maior que a encontrada nas amostras em Iraquara, sendo representada pelo valor $r = 0,65$.

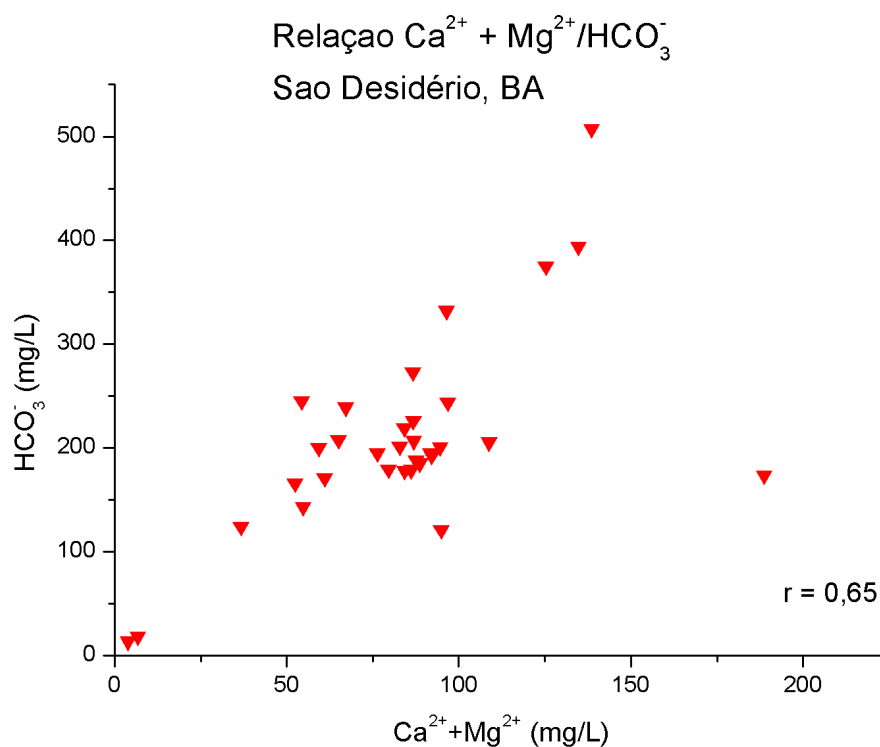


Figura 27. Gráfico de relação entre HCO_3^- e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para a região de São Desidério, BA. Dados de Godinho (2017) e ANA (2017).

O resultado da correlação entre o sulfato e a somatória dos dois cátions (Figura 28) apresenta coeficiente de Pearson com o valor de $r = 0,47$. Valor significamente menor que o encontrado em Iraquara, demonstrando que a presença destes íons na água não deve ter uma relação tão expressiva.

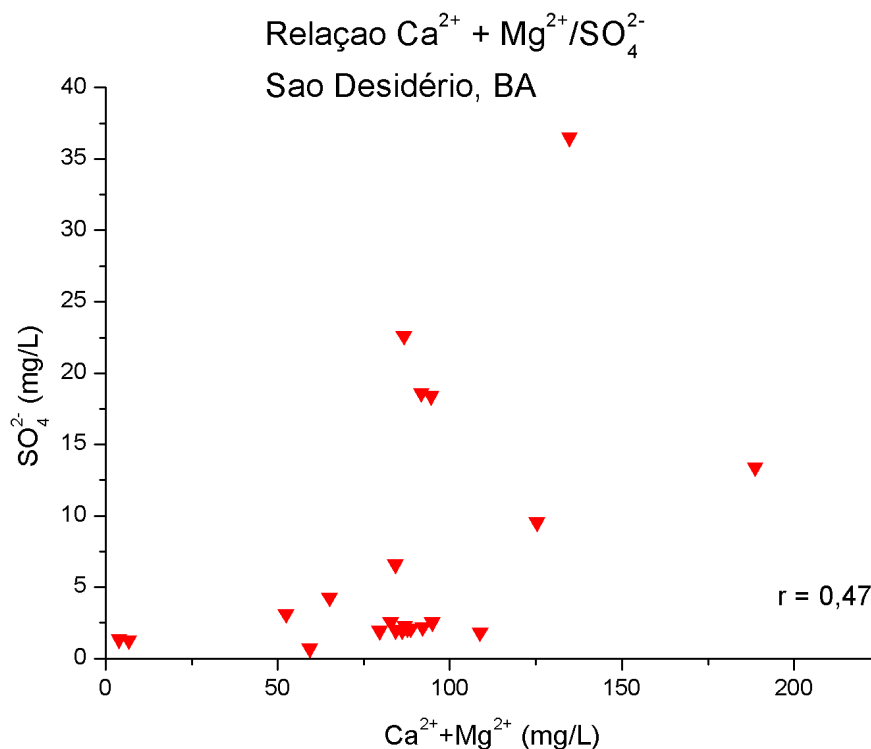


Figura 28. Gráfico de relação entre SO_4^{2-} e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para a região de São Desidério, BA. Dados de Godinho (2017) e ANA (2017).

7.2.3 Iporanga

Assim como em São Desidério, as amostras de água de Iporanga foram classificadas a partir do diagrama de Piper (Figura 29) como águas bicarbonatadas cálcicas, porém estas amostras encontram-se plotadas no diagrama de forma bastante concentradas por apresentarem composições químicas similares.

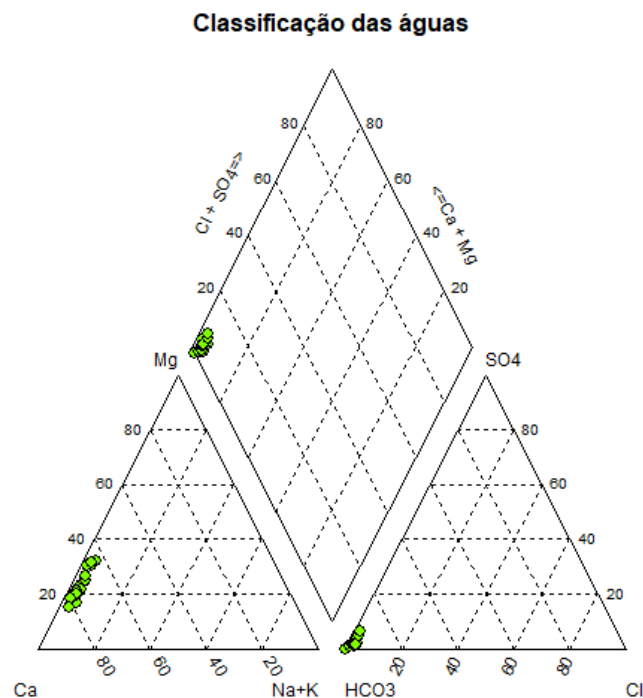


Figura 29. Diagrama de Piper para os dados hidroquímicos de Iporanga, SP. Dados de Karmann (1994) e CPRM (2018).

Em termos das correlações iônicas, as amostras de água coletadas no freático do Bairro da Serra, em Iporanga apresentam os resultados opostos aos resultados de Iraquara, enquanto São Desidério apresenta uma hidroquímica intermediária. Com um valor $r = 0,93$, Iporanga apresenta a correlação mais forte entre HCO_3^- e $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ (Figura 30).

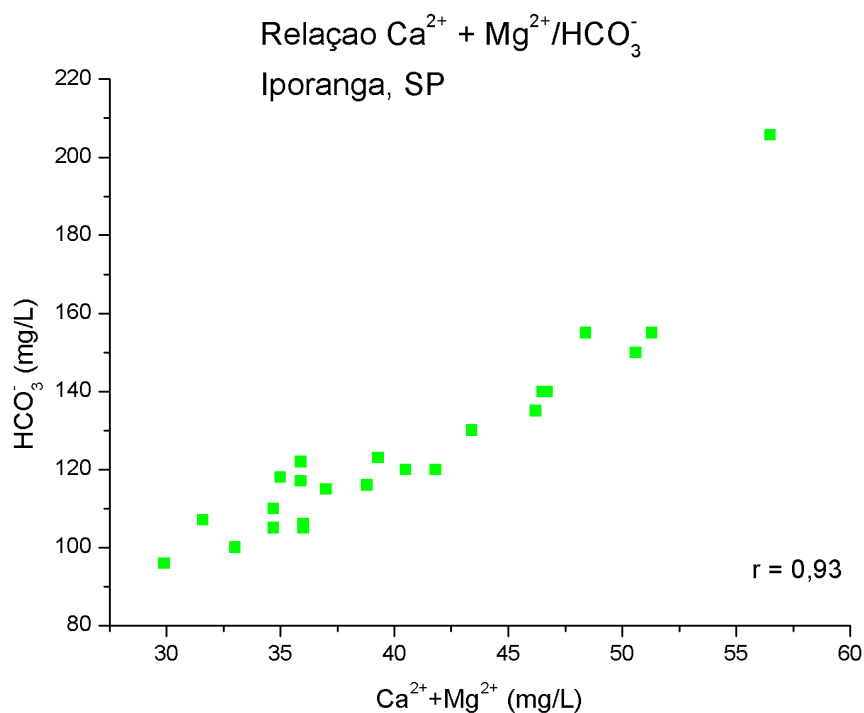


Figura 30. Gráfico de relação entre HCO_3^- e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para a região de Iporanga, SP. Dados de Karmann (1994) e CPRM (2018).

A Figura 30 associada com a figura 31, sendo que o coeficiente de Pearson para a última tem o valor de 0,49, mostra que o sistema cárstico de Iporanga tem como agente corrosivo quase que exclusivo o ácido carbônico, concordando com a descrição hidroquímica do sistema feita por Karmann (1994).

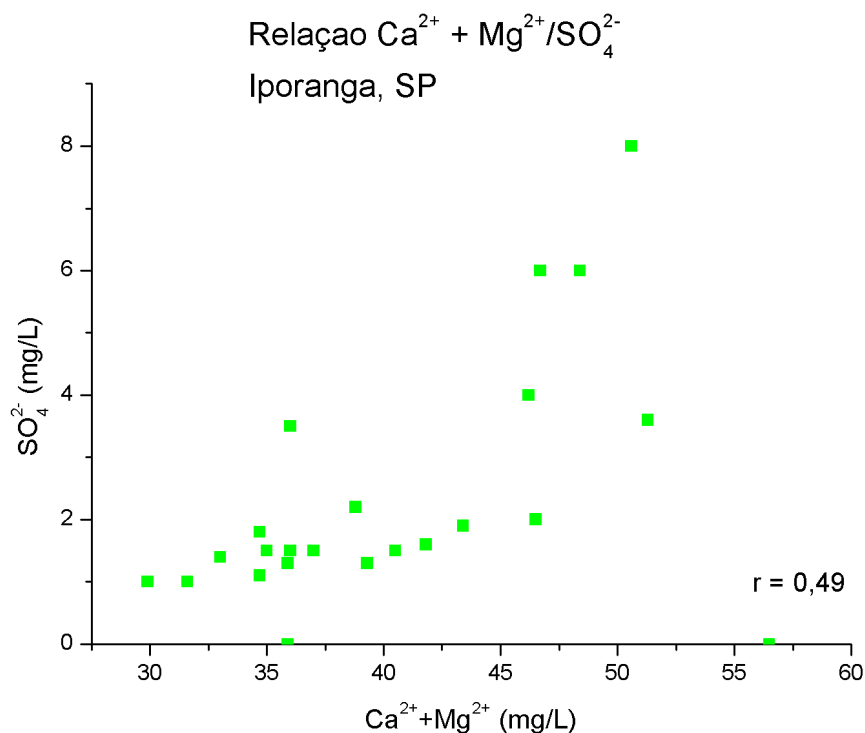


Figura 31. Gráfico de relação entre HCO_3^- e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para a região de Iporanga, SP. Dados de Karmann (1994) e CPRM (2018).

7.2.4 Comparações entre os sistemas hidroquímicos

Além de observar as variações que existem na classificação das amostras das três áreas de estudo por meio dos diagramas de piper, também é possível distinguir os três grupos de amostras analisadas plotando-se as três áreas num mesmo gráfico de relação entre cátions e ânions (Figuras 32 e 33). Desta maneira visualiza-se os contrastes químicos entre as 3 áreas, onde as águas freáticas do carste de Iraquara apresentam os maiores teores de cátions e ânions, e o carste de Iporanga, os menores teores. Ressalta-se que todas estas águas apresentam índice de saturação positivo em relação a CaCO_3 , ou seja, as águas de Iraquara possuem as maiores concentrações de saturação em relação a calcita.

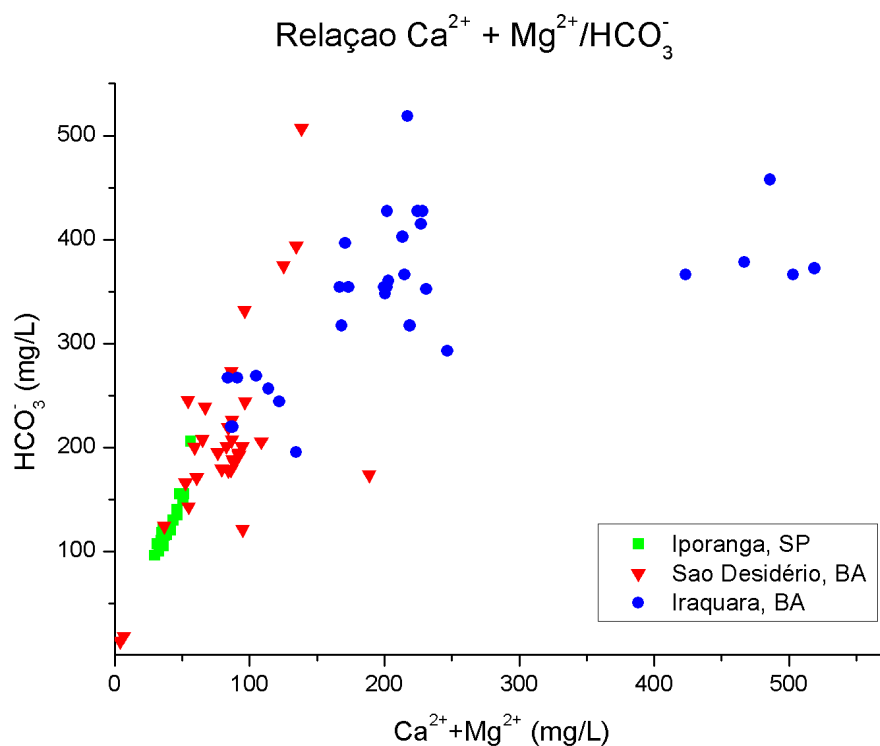


Figura 32. Gráficos de relação entre HCO_3^- e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para as regiões de Iporanga, SP, São Desidério, BA e Iraquara, BA. Dados de Karmann (1994), Valle (2004), ANA (2017), Godinho (2017) e CPRM (2018).

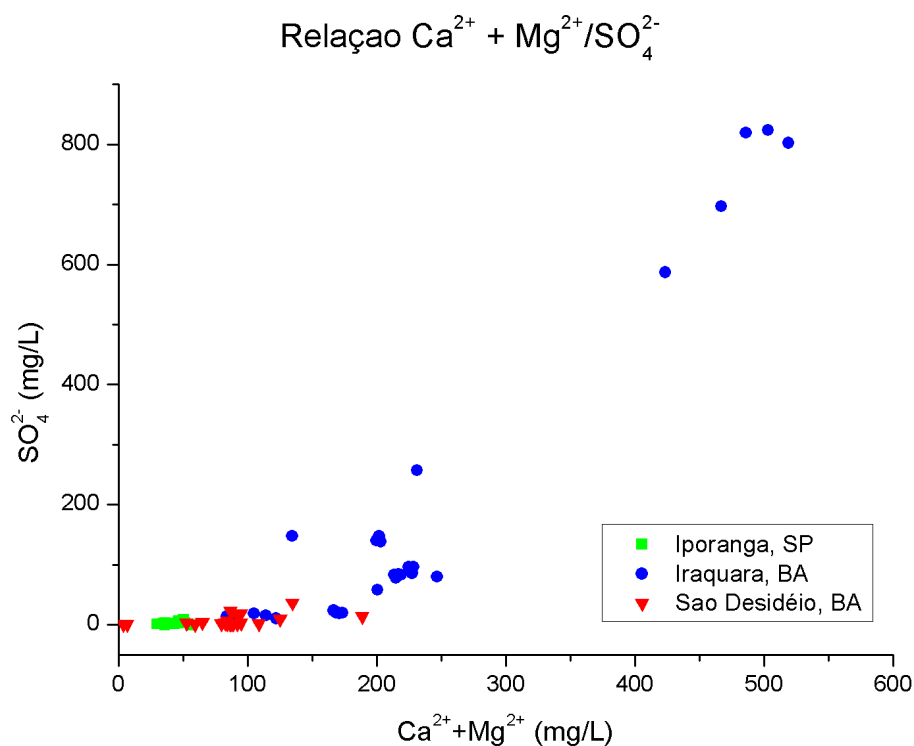


Figura 33. Gráficos de relação entre SO_4^{2-} e a somatória de Ca^{2+} e Mg^{2+} para as regiões de Iporanga, SP, São Desidério, BA e Iraquara, BA. Dados de Karmann (1994), Valle (2004), ANA (2017), Godinho (2017) e CPRM (2018).

Worthington e Ford (1995) ao comparar análises hidroquímicas de mais de 400 nascentes em calcário do mundo estabeleceram relações entre os ânions hidrogenocarbonato e sulfato com o intuito de discutir a origem dos principais cátions e ânions em nascentes cársticas. De acordo com os autores, o SO_4^{2-} nas áreas cársticas pode ter origem a partir da dissolução de minerais evaporíticos intercalados nos calcários (gipsita, anidrita primária) ou através da oxidação de sulfetos (pirita, galena) também intercalados nas rochas carbonáticas. No caso dos aquíferos brasileiros estudados na presente pesquisa não são identificados depósitos evaporíticos, em que gipsita e anidrita poderiam ser a fonte do íon sulfato. Porém, partindo do conhecimento de depósitos de sulfetos metálicos em rochas carbonáticas do Grupo Una, Grupo Bambuí e Supergrupo Açungui, foi elaborado um gráfico (Figura 34) com a mesma relação de HCO_3^- X SO_4^{2-} proposta por Worthington e Ford (1995) com o intuito de distinguir as populações de água das três áreas amostradas, ressaltando que em Iraquara, ocorrem altas concentrações de sulfato na água e, portanto, nesta região ocorre um fator a mais além da oxidação inorgânica natural para converter o sulfeto da rocha em íon sulfato na solução aquosa.

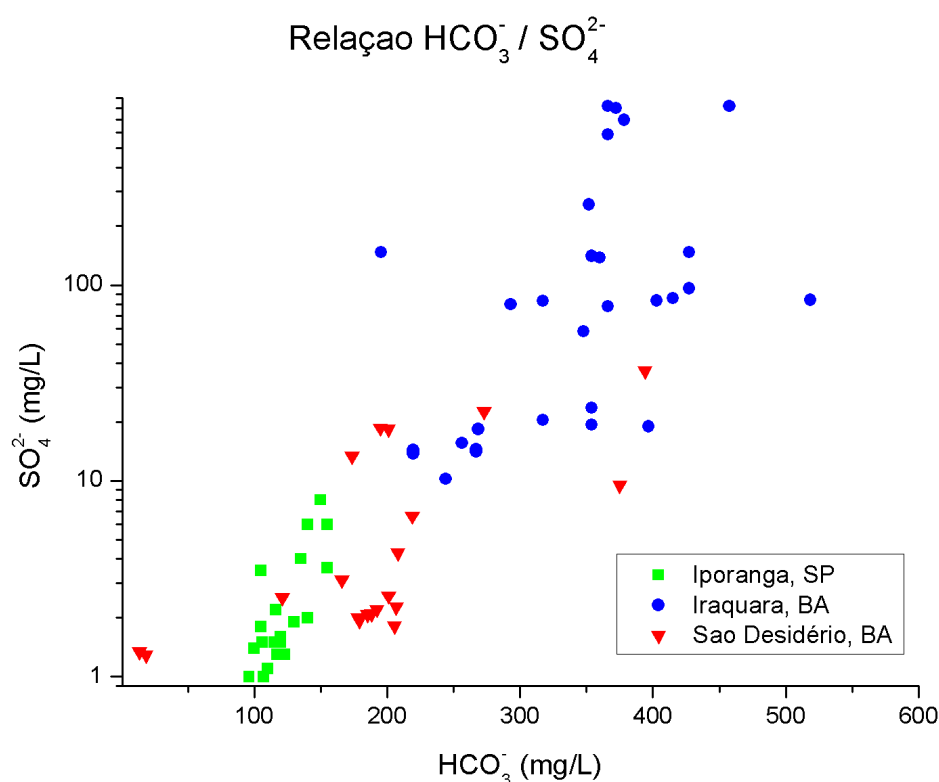


Figura 34. Gráficos de relação entre SO_4^{2-} e HCO_3^- para as regiões de Iporanga, SP, São Desidério, BA e Iraquara, BA. Dados de Karmann (1994), Valle (2004), ANA (2017), Godinho (2017) e CPRM (2018).

7.3 Microbiologia

7.3.1 Diversidade

O sequenciamento do DNA extraído a partir das amostragens e processamento realizados tem como produto final uma listagem de Unidades Operacionais Taxonômicas (OTUs), sendo que cada OTU representa um tipo (espécie) de organismo encontrados.

Como a etapa de filtragem das OTUs, foram selecionadas apenas aquelas representativas do Filo Proteobacteria (Figura 35), pois é a classificação taxonômica onde já foram majoritariamente descritos os metabolismos de interesse para o trabalho, tais como o do ferro e do enxofre.

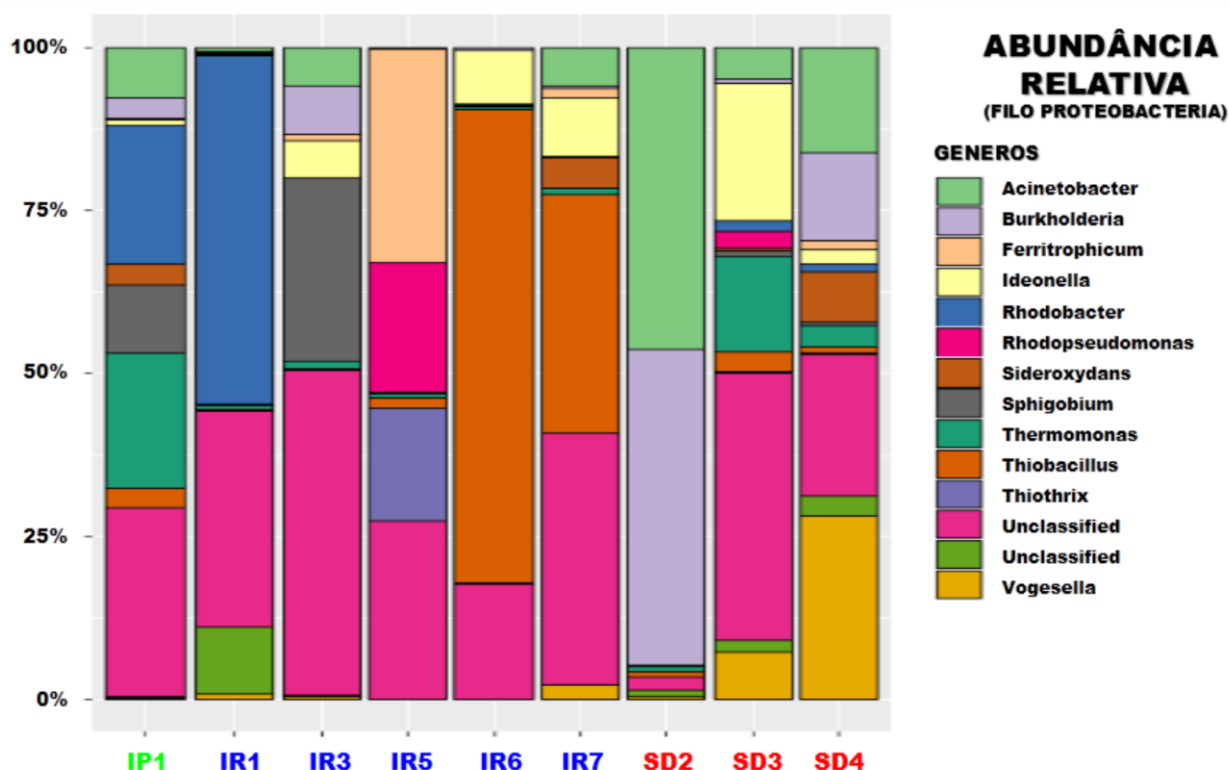


Figura 35. Abundância relativa, classificada à nível taxonômico de gênero, dos micro-organismos sequenciados por amostra. Cada cor nas barras representam um gênero diferente. No eixo x estão representadas os pontos amostrados, sendo que cada cor representa uma das regiões de amostragem. No eixo y, a escala das porcentagens de abundância relativa.

A abundância dos micro-organismos em relação à distribuição, não apresentou um padrão ou gradiente entre as amostras. À seguir, é feita uma descrição dos resultados mais relevantes em relação às amostras.

Em **IP1**, os gêneros que apresentaram maior abundância foram *Rhodobacter*, *Thermomonas* e *Sphigobium*. Também foi registrado o gênero *Thiobacillus*, porém ocorrendo com valores de abundância relativa inferiores a 5%.

IR5 apresenta 3 gêneros predominantes, além de um grupo expressivo de OTUs não classificadas. Dentre os gêneros com maior relevância encontra-se o gênero *Thiothrix*, representando aproximadamente 20% do total.

Já em **IR6**, é possível observar três gêneros principais, sendo que o *Thiobacillus* é encontrado em grandes proporções, representando por volta de 70% da amostra.

Em **IR7**, assim como em IR6, o gênero *Thiobacillus* também se apresenta com maior abundância dentre os gêneros classificados com aproximadamente 35% do total.

Nos pontos pertencentes à São Desidério, **SD2**, **SD3** e **SD4**, não apresentam abundância relativa dos gêneros *Thiothrix* e *Thiobacillus* em proporções significativas.

Dentre todos os grupos taxonômicos obtidos pelo sequenciamento, chamou a atenção a grande proporção dos organismos relacionados ao ciclo do enxofre e do ferro e assim destacam-se como gêneros mais relevantes o *Thiobacillus* e o *Thiothrix* já citados em alguns trabalhos de geo-espeleologia e espeleogênese (Hill, 1985; Auler e Smart, 2003; Valle, 2004, Engel *et al.* 2010) como organismos relevantes para a produção do ácido sulfúrico.

Do ponto de vista metabólico, tanto o *Thiobacillus* quanto o *Thiothrix*, compreendem grupos taxonômicos, incluindo bactérias que promovem a oxidação do enxofre disposto em diversas espécies químicas como o enxofre elementar, sulfito e sulfetos (Fike *et al.*, 2015; Engel *et al.*, 2010). Estas abrangem uma diversidade de bactérias aeróbias e anaeróbias, cujas funções metabólicas podem ser autótrofas, heterótrofas, quimiolitotróficas ou mixótrofas. Destaca-se entre as bactérias do gênero *Thiobacillus*, a bactéria *Thiobacillus ferrooxidans* que promove a oxidação da pirita (FeS_2) gerando sulfato de ferro II (FeSO_4) e ácido sulfúrico (Valle, 2004).

No ponto IR5 foi registrada a maior abundância relativa para o *Thiothrix* e IR6 e IR7 para o *Thiobacillus*. Estes pontos correspondem, respectivamente, aos dois pontos de coleta do Povoado de Lagoa Preta no município de Mulungu do Morro e ao Povoado de Cochó do Malheiros no município de Seabra, todos dentro do sistema cárstico de Iraquara, no Grupo Una.

O gênero *Thiobacillus* compreende em sua maioria grupos taxonômicos relacionados ao ciclo do enxofre, majoritariamente exercendo forte papel na oxidação do sulfeto a sulfato. A predominância deste em relação a abundância relativa no ponto IR6 condiz com a tese central deste trabalho, já que neste mesmo ponto foram registrados os maiores valores de sulfato na água. Este fato dá embasamento à hipótese de que a alta concentração do sulfato na água seja influenciada pela atividade microbiana em profundidade.

É necessário interpretar os dados de diversidade apenas como parâmetro qualitativo, que gera uma resposta indicativa da relação entre a comunidade microbiana e determinada variação de um parâmetro. Para ser possível inferir algo sobre o metabolismo, análises quantitativas de produção utilizando de indicadores genéticos de atividade metabólica são necessários para fazer com que a análise da comunidade microbiana gere uma resposta direta sobre a influência em determinado ambiente. Dado que o sequenciamento tem como alvo todo o material genético contido na amostra, e como agente identificador o RNA ribossomal 16S, somente a diversidade é abordada, não adentrando em méritos do metabolismo.

7.3.2 Distribuição

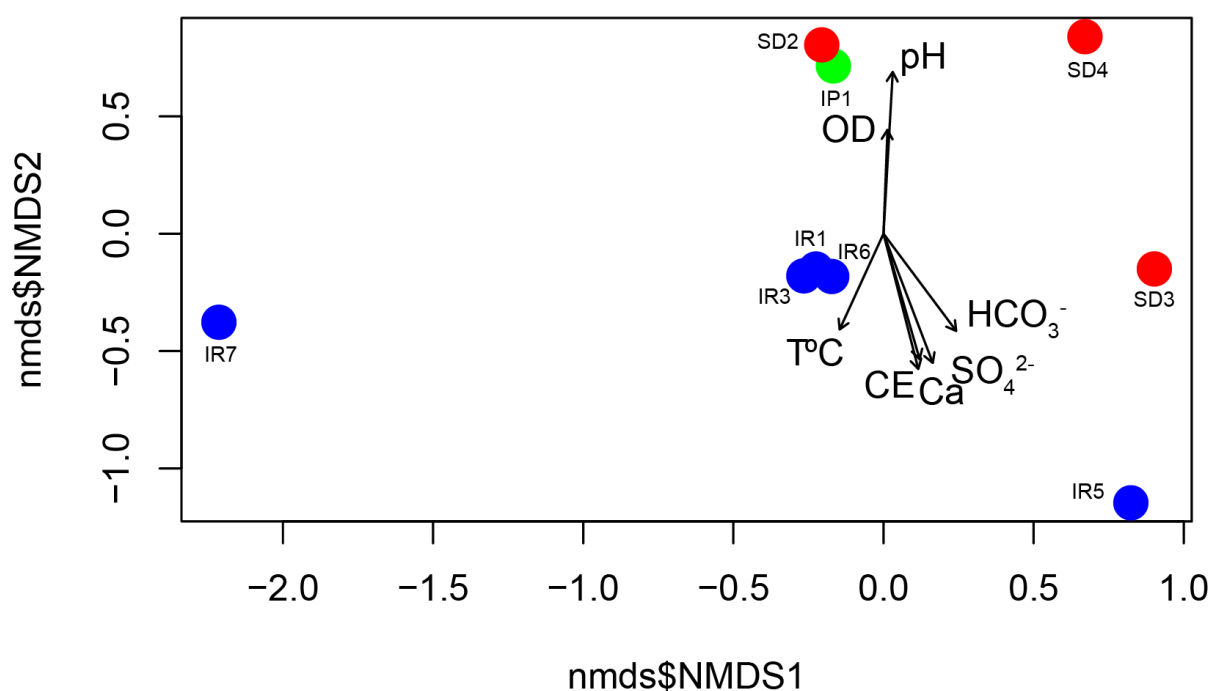


Figura 36. Escala multidimensional não-métrica (non-metric multidimensional scaling - nMDS), representando a diversidade da comunidade microbiana em relação às diferentes amostras, representadas cada uma por um círculo e cada região por uma cor. A influência dos parâmetros físico-químicos está representada na figura por vetores, correspondendo cada vetor a um diferente parâmetro (T°C = temperatura em graus Celsius, CE = condutividade elétrica, OD = oxigênio dissolvido; Ca = concentração de Ca²⁺, SO₄²⁻ = concentração de SO₄²⁻, HCO₃⁻ = concentração de HCO₃⁻). Nos eixos x e y, são representados respectivamente os valores de nMDS 1 e nMDS 2, escala adimensionais representativas da distância estatística obtida pela análise de beta-diversidade.

A análise de beta-diversidade feita através do método de nMDS (Figura 36) deixa clara a heterogeneidade da comunidade microbiana de cada amostra. Nesta análise, quanto mais próximos dois pontos, mais semelhantes são as comunidades de cada ponto em relação à diversidade, sendo válido o oposto, onde quanto mais distantes mais diferentes são entre si. A distribuição inicial, evidenciada pela configuração das cores, é a das regiões de coleta. Os pontos referentes às regiões

de São Desidério e Iporanga, respectivamente representados pelas cores vermelha e verde, encontram-se agrupados em posição diferente dos da região de Iraquara (azul), mostrando de início como as comunidades são distintas entre as regiões. O maior agrupamento foi registrado entre as amostras IR1, IR3 e IR6, indicando maior semelhança entre as comunidades, o que pode estar relacionado à distribuição geográfica, dado que amostragens em regiões próximas umas das outras tendem a ser do mesmo aquífero, com condições físico-químicas relativamente semelhantes. Este mesmo raciocínio pode ser aplicado para outros pontos, mostrando quais comunidades são semelhantes ou distintas entre si em relação à diversidade.

Os vetores, correspondentes cada um a uma das variáveis físico-químicas registradas nos pontos de amostragem, devem ser interpretados como indicadores da relação entre a diversidade da comunidade e a variação dos parâmetros físico-químicos. Visualmente, quando um dos pontos encontra-se na mesma direção de um vetor, a influência deste é positiva, ou seja, a correlação entre este parâmetro e a diversidade da comunidade em um determinado ponto é positiva. Sendo assim, quando um ponto está em oposição a um vetor, tem-se que sua correlação é negativa.

Os pontos IR1, IR3, IR5, IR6 e SD3 apresentaram maior correlação positiva entre sua diversidade e os parâmetros $T^{\circ}C$, CE, Ca^{2+} , SO_4^{2-} e HCO_3^{-} , e correlação negativa com pH e OD. Elencando essas tendências aos dados de diversidade e o fato das amostras IR5 e IR6 apresentarem maior ocorrência dos gêneros *Thiobacillus* e *Thiothrix*, reforça-se a hipótese de que a abundância destes grupos pode estar relacionada à acidificação do meio, logo que: a correlação negativa destes com o pH concorda com o fato de que as atividades dessas comunidades estejam vinculadas à acidificação do meio que acarreta na diminuição do pH, enquanto a correlação positiva com o sulfato reforça a hipótese de que a comunidade microbiana possa ser a responsável pela produção do íon e consequentemente a acidificação do meio. Por último a correlação negativa com OD que evidencia a atividade microbiana em meio anaeróbio, característica do metabolismo em questão.

8 CONCLUSÕES

Por meio da comparação entre as análises hidroquímicas dos aquíferos de Iraquara (BA), São Desidério (BA) e Iporanga (SP) disponíveis na literatura (Karmann, 1994; Valle, 2004; Godinho, 2017; ANA, 2017 e CPRM, 2018) foi possível identificar que em termos hidroquímicos, os sistemas cársticos de Iporanga e São Desidério são similares, apresentando comportamento semelhantes entre os íons, diferenciando-se na concentrações iônicas, ocorrendo valores de totais de sólidos dissolvidos maiores em São Desidério.

Iraquara, porém, é onde ocorrem as maiores concentrações iônicas, destacando-se por apresentar altos valores de sulfato que podem indicar que o sistema cárstico local se trata de um exemplo de *Sulfuric Acid Speleogenesis* (SAS) cuja acidez tem origem na própria rocha encaixante

(*bedrock-acidity*). Esta hipótese é reforçada pela iniciação freática muito bem desenvolvida, evidenciada pela morfologia, em cavernas de Iraquara e pela presença expressiva de depósitos químicos de gipsita.

Considerando o ácido sulfúrico como um agente corrosivo relevante no sistema cárstico de Iraquara, e observando a semelhança composicional das rochas encaixantes dos sistemas, explica-se os altos valores de sulfato pela presença, em grande abundância relativa, de bactérias dos gêneros *Thiobacillus* e *Thiothrix*, uma vez que com metabolismo destes está associado ao ciclo do enxofre.

Reunindo informações morfológicas e dos espeleotemas de cavernas, associado a análise hidrogeoquímica e microbiológica, propõe-se que a gênese do aquífero cárstico e as cavernas da região de Iraquara tem como agente corrosivo, além do ácido carbônico, o ácido sulfúrico de origem biogênica, durante a fase inicial da espeleogênese.

Iporanga e São Desidério, por outro lado, tem o ácido carbônico como agente corrosivo principal, seguindo os modelos clássicos de espeleogênese com formação do ácido próximo à superfície.

Por fim, recomenda-se a continuação do trabalho, realizando um detalhamento geoquímico das rochas encaixantes, incluindo o estudo de isótopos de enxofre, com o intuito de demonstrar a origem litológica do enxofre presente na água e a avaliação da atividade metabólica dos micro-organismos por meio de análises biomoleculares mais complexas, ou até técnicas de cultivo e avaliação de metabolismo, a fim de evidenciar de forma mais concreta a origem biogênica do ácido sulfúrico.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - Associação Brasileiras de Normas Técnicas. NBR 15847 – Amostragem de água subterrânea em poços de monitoramento – Métodos de purga. Norma técnica. Rio de Janeiro, 2010.
- ABNT - Associação Brasileiras de Normas Técnicas. NBR 9898 – Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores. Norma técnica. Rio de Janeiro, 1987.
- ANA - Agência Nacional de Águas. Avaliação Hidrogeológica dos Sistemas Aquíferos Cársticos e Fissuro-Cársticos na Região Hidrográfica do São Francisco com Vistas à Gestão Integrada e Compartilhada de Recursos Hídricos. Relatório técnico. Brasília, 274, 2017.
- Araújo, C. C. (1999). Aplicação de geoprocessamento na análise de favorabilidade para mineralizações de chumbo, zinco e cobre nas folhas Cerro Azul e Apiaí, Vale do Ribeira, (SP e PR). Tese (Mestrado). Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.

- Auler, A., Smart, P. L. (2003). The influence of bedrock-derived acidity in the development of surface and underground karst: evidence from the Precambrian carbonates of semi-arid northeastern Brazil. *Earth surface processes and landforms*, 28, 157-168.
- Barbosa, A.; Guimarães, J. (1946). Contribuição ao conhecimento da província metalogenética da região da Ribeira, Estado de São Paulo. II Congresso Panamericano de Engenharia de Minas e Geologia. v. 2, p. 35-100. Petrópolis.
- Barbour, A. P.; Neves, B. B. B.; Medeiros, R. A. (1990). Algumas implicações tectônicas na gênese das mineralizações sulfetadas do tipo painéis no Vale do Ribeira, SP e PR. *Revista Brasileira de Geociências*. v. 20 (1-4), p. 46-54.
- Bittencourt, C.; Reis Neto, J. M. (2012). O sistema cárstico de Vazante - carste em profundidade em metadolomitos do Grupo Vazante - MG. *Revista Brasileira de Geociências*, 42 (1), p. 1-10.
- Bizzi L.A., Schobbenhaus C., Gonçalves J.H., Baars F.J., Delgado I. M., Abram M.B., Leão Neto R., Matos G.M.M., Santos J.O.S. 2001. Geologia, tectônica e recursos minerais do Brasil: Sistema de Informações Geográficas – SIG e mapas na escala 1:2.500.000. Brasília, CPRM, 4 CD-ROM.
- Bögli, A. (1980). Karst hydrology and physical speleology. Berlin, New York: Springer-Verlag.
- Campanha, G. A. da C. (1992). Tectônica proterozóica no alto e médio Vale do Ribeira, estados de São Paulo e Paraná. Tese (Doutorado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Caporaso, J. G.; Kuczynski J.; Stombaugh J.; Bittinger, K.; Bushman, F. D.; Costello, E. K.; Fierer, N.; Pena, A. G.; Goodrich, J. K.; Gordon, J. I.; Huttley, G. A.; Kelley, S. T.; Knights, D.; Koenig, J. E.; Ley, R. E.; Lozupone, C. A.; McDonald, D.; Muegge, B. D.; Pirrung, M.; Reeder, J.; Sevinsky, J. R.; Turnbaugh, P. J.; Walters, W. A.; Widmann, J.; Yatsunenko, T.; Zaneveld, T.; Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*; DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
- Caporaso, J. G.; Lauber, C. L.; Walters, W. A.; Berg-Lyons, D.; Lozupone, C. A.; Turnbaugh, P. J.; Fiere, N.; Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. 108, 4516–4522.
- Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais. CPRM. (2018). Sistema de Informações de Águas Subterrâneas. SIAGAS. Acesso em 01 de agosto de 2018, <<http://siagasweb.cprm.gov.br/layout/index.php>>.
- Cruz Júnior, F. W. (1998). Aspectos geomorfológicos e geoespeleologia do carste da Região de Iraquara, centro-norte da Chapada Diamantina, Estado da Bahia. Tese (Mestrado). São Paulo. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.

- Duarte, G.; Karmann, I.; Godinho, L. P. de S. (2018). Espeleoconservação: Replicação e inserção de espeleotema na Gruta do Catão, município de São Desidério, BA. 49º Congresso Brasileiro de Geologia. v. 1, p. 66. Rio de Janeiro: SBG.
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*. v. 26 (19). p. 2460–2461.
- Edgar, R. C., Haas, B. J.; Clemente, J. C.; Quince C.; Knight, R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*. v. 27 (16). p. 2194–2200.
- Egydio, M. da S.; Karmann, I.; Trompette, R. (1989). Litoestratigrafia do Supergrupo Espinhaço e Grupo Bambuí no Nordeste do Estado da Bahia. *Revista Brasileira de Geociências*, 19 (2), 141–152.
- Engel, A. S.; Meisinger, D. B.; Porter, M. L.; Payn, R. A.; Schmid, M.; Stern, L. A.; Schleifer, K. H.; Lee, N. M. (2010). Linking phylogenetic and functional diversity to nutrient spiraling in microbial mats from Lower Kane Cave (USA). *The ISME journal*, 4(1), 98.
- Fike, D. A.; Bradley, A. S.; Leavitt, W. D. (2015). Geomicrobiology of Sulfur. In: Ehrlich, H. L.; Newman, D. K.; Kappler, A. (eds.). *Ehrlich's Geomicrobiology*. (v. 6, p. 479-515). Boca Raton: Taylor and Francis Group.
- Ford, D. C.; Williams, P. W. (1989). *Karst geomorphology and hydrology*. London: Unwin Hyman.
- Gabrovšek, F.; Dreybrodt, W. (2000). Role of mixing corrosion in calcite-aggressive H₂O-CO₂-CaCO₃ solutions in the early evolution of karst aquifers in limestone. *Water Resources Research*, 36(5), 1179-1188.
- Godinho, L. P de S. (2017). Espeleogênese na área cárstica de São Desidério - BA e sua relação com a evolução geomorfológica e flutuações do nível de base na região leste do Chapadão Central Brasileiro. Qualificação (Doutorado). Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Guerra, A. M. (1986). Processos de carstificação e hidrogeologia do Grupo Bambuí na região de Irecê-Bahia. Tese (Doutorado). São Paulo. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Hill, C. A. (1987). Geology of Carlsbad Cavern and other caves in the Guadalupe Mountains, New Mexico and Texas. *New Mexico Bureau of Mines & Mineral Resources, Bulletin* 117.
- Hill, C. A. (1990). Sulfuric acid speleogenesis of Carlsbad cavern and its relationship to hydrocarbons, Delaware Basin, New Mexico and Texas. *AAPG bulletin*, 74(11), 1685-1694.
- Hill, C. A. (1995). Sulfur redox reactions: hydrocarbons, native sulfur, Mississippi Valley-type deposits, and sulfuric acid karst in the Delaware Basin, New Mexico and Texas. *Environmental Geology*, 25 (1), 16-23.

- Karmann, I. (1994). Evolução e dinâmica atual do sistema cárstico do alto vale do Rio Ribeira de Iguape, sudeste do Estado de São Paulo. Tese (Doutorado). Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Karmann, I.; Ferrari, J. A. (2002). Carste e Cavernas do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), SP. In Schobbenhaus, C.; Campos, D. D. A.; Queiroz, E. D.; Winge, M.; Berbert-Born, M. L. C. Sítios geológicos e paleontológicos do Brasil (p. 401-413). Brasília: DNPM, CPRM, SIGEP.
- Klimchouk, A. B. (2007). Hypogene Speleogenesis: Hydrogeological and Morphogenetic Perspective. Carlsbad: Special Paper no. 1, National Cave and Karst Research Institute.
- Klimchouk, A. B.; Auler, A. S.; Bezerra, F. H. R.; Cazarin, C. L.; Balsamo, F.; Dublyansky, Y. (2016). Hypogenic origin, geologic controls and functional organization of a giant cave system in Precambrian carbonates, Brazil. *Geomorphology*. v. 253, p. 385-405.
- Konhauser, K. (2007). Introduction to geomicrobiology. Blackwell Publishing.
- Laureano, F. V. (1998). O registro sedimentar clástico associado aos sistemas de cavernas Lapa Doce e Torrinha, Município de Iraquara, Chapada Diamantina (BA). Tese (Mestrado). Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Laureano, F. V. (2014). Idades de Soterramento 'ANTPOT.26 Al'/'ANTPOT.10 Be' em grãos de quartzo e o assoreamento de sistemas de cavernas na região de Iraquara, (BA): 2 milhões de anos de registro sedimentar no Quaternário. Tese (Doutorado). Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Misi, A. (1979). O Grupo Bambuí no estado da Bahia. Geologia e recursos minerais do estado da Bahia. Textos básicos. v. 1, p. 119-154. Salvador, CPM.
- Misi, A.; Kyle, J. R. (1994). Upper Proterozoic carbonate stratigraphy, diagenesis, and stromatolitic phosphorite formation, Irecê Basin, Bahia, Brazil. *Journal of Sedimentary Research*, 64 (2).
- Misi, A.; Souto, P. (1975). Controle estratigráfico das mineralizações de chumbo, zinco, flúor e bário no Grupo Bambuí—parte leste da Chapada de Irecê (BA). *Brazilian Journal of Geology*, 5 (1), 30-45.
- Oksanen J., Blanchet F.G., Kindt R., Legendre P., Minchin P.R., O'hara R.B. et al. (2013). Package 'vegan'. Community ecology package, v. 2. 4-3.
- Palmer, A. N. (1991). Origin and morphology of limestone caves. *Geological Society of America Bulletin*, 103(1) , 1-21.
- Piccini, L.; De Waele, J.; Galli, E.; Polyak, V. J.; Bernasconi, S. M.; Asmerom, Y. (2015). Sulphuric acid speleogenesis and landscape evolution: Montecchio cave, Albegna river valley (Southern Tuscany, Italy). *Geomorphology*, 229, 134-143.

- Plan, L.; Tschegg, C.; De Waele, J.; Spötl, C. (2012). Corrosion morphology and cave wall alteration in an Alpine sulfuric acid cave (Kraushöhle, Austria). *Geomorphology*, 169, 45-54.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucl. Acids Res.* 41 (D1): D590-D596.
- Sallun Filho, W., Karmann, I. (2012). Províncias cársticas e cavernas no Brasil. Em: Hasui, Y., Carneiro, C. D. R., Almeida, F. F. M., Bartorelli, A., *Geologia do Brasil* (v 1, 629-641). São Paulo.
- Thompson, L. R.; Sanders, J. G.; McDonald, D.; Amir, A.; Ladau, J.; Locey, K. J.; Prill, R. J.; Tripathi, A.; Gibbons, S., M.; Ackermann, G.; Navas-Molina, J. A.; Janssen, S.; Kopylova, E.; Vásquez-Baeza, Y.; Morton, J. T.; Mirarab, S.; Xu, Z. Z.; Jiang, L.; Haroon, M. F.; Kanbar, J.; Zhu, Q.; Song, S. J.; Kosciółek, T.; Bokulich, N. A.; Lefler, J.; Brislawn, C. J.; Humphrey, G.; Owens, S. M.; Hampton-Marcell, J.; Berg-Lyons, D.; McKenzie, V.; Fierer, N.; Fuhrman, J. A.; Clauser, A.; Stevens, R. L.; Shade, A.; Pollard, K. S.; Goodwin, K. D.; Jansson, J. K., Gilbert, J. A., Knight, R., e The Earth Microbiome Project Consortium. (2017). A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature*, 551:457-463.
- Valle, M. A. (2004). Hidrogeoquímica do Grupo Una (Bacias de Irecê e Salitre): um exemplo da ação de ácido sulfúrico no sistema cárstico. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo
- Worthington, S. R. H. (1991). Karst hydrogeology of the Canadian rocky mountains. 1991. Tese (Doutorado). McMaster University.
- Yilmaz P, Parfrey LW, Yarza P, Gerken J, Pruesse E, Quast C, Schweer T, Peplies J, Ludwig W, Glöckner FO (2014) The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucl. Acids Res.* 42:D643-D648.
- Zogbi, L.; Calux, A. (2017). *Luzes na Escuridão*. São Paulo: Estalactite Editora.