

CICLAGEM DE CARBONO E DEGRADAÇÃO DE XENOBIÓTICOS EM SOLO RESIDUAL TROPICAL

Patricia Österreicher-Cunha*¹, Eurípedes do Amaral Vargas Jr.¹, Franklin dos Santos Antunes¹, Geórgia Peixoto Bechara Mothé¹, Priscilla Lopes da Silva Guimarães^{1,3}, Amanda Fabiana Baião Fernando¹, Jean Rémy Davée Guimarães² & Heitor Luiz da Costa Coutinho³

RESUMO

Processos microbianos em solos superficiais são extensamente estudados, visto seu papel na manutenção da fertilidade e da vida no planeta. Processos da zona vadosa de solos tropicais são menos conhecidos, e solos residuais brasileiros, que preservam a estrutura heterogênea da rocha-mãe, são diferentes dos solos sedimentares do hemisfério Norte, origem de grande parte da pesquisa nessa área. A heterogeneidade solo residual jovem do estudo gera uma diferenciação na microbiota, relevante na ciclagem de nutrientes e na degradação do carbono natural e xenobiótico. O estado metabólico da microbiota, responsável pela ciclagem de carbono, permite monitorar a biodegradação; porém, ambiente e solo são determinantes na distribuição, composição e atividade microbianas, evidenciando a necessidade de avaliar o solo como suporte para a microbiota. Diferentes capacidades degradadoras microbianas dependem da disponibilidade de nutrientes, água e oxigênio necessários para sua sobrevivência. O estudo relaciona as características das feições de solo às da microbiota, ligando biomassa e atividade microbianas com teor, disponibilidade e utilização do C, e com as características físico-químicas do solo. A feição arenosa, com menor atividade, menos C e água, suporta uma microbiota mais eficiente na assimilação do C, apresentando também melhor potencial degradador de óleo e gasolina.

ABSTRACT

Microbial processes in superficial soils are extensively studied given their role in soil fertility and life on our planet. Processes in the vadose zone of tropical soils are less understood; moreover, Brazilian residual soils preserve the structure of the mother rock, being different from sedimentary soils of the North hemisphere, where most of research is conducted. The heterogeneity of the young residual soil of this study causes a differentiation in the microbiota, an important property for nutrient cycling of natural and xenobiotic carbon. Microbial metabolic state informs on biodegradation processes, microbial populations being responsible for most of carbon cycling; however, environment and soil rule microbial distribution, composition and activity, hence the need to evaluate soil as a support for microbial growth. Degrading capacities differ with populations, which depend on nutrient, water and oxygen availability for their survival. This research relates the characteristics of soil facies to those of the microbiota, linking biomass and activity to carbon amounts, availability and use, as well as microbial distribution to soil physical-chemical characteristics. The sandy facies, bearing less activity, carbon and water content, supports a more efficient microbiota concerning carbon assimilation, also presenting a better potential for crude oil and gasoline degradation.

PALAVRAS-CHAVE solo residual, ciclagem de carbono, hidrocarbonetos de petróleo

1 Departamento de Engenharia Civil – PUC-Rio. Rua Marquês de São Vicente 225-301L, 22451-900 Rio de Janeiro, Brasil. osterr@esp.puc-rio.br

2 Inst. de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ. Bloco G, CCS, Ilha do Fundão, 21941-902 Rio de Janeiro. jeanrdg@biof.ufrj.br

3 Centro Nacional de Pesquisa de Solos, EMBRAPA-Solos, R. Jardim Botânico 1024, 22460-000 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

heitor@cnpes.embrapa.br

1 - INTRODUÇÃO

Bactérias e fungos do solo têm um papel primordial nos ciclos bio-geo-químicos e são os responsáveis pela ciclagem dos compostos orgânicos no ambiente. Microrganismos do solo também influenciam os ecossistemas na superfície pela sua contribuição para a manutenção da fertilidade do solo, a nutrição e a saúde dos vegetais, assim como na estrutura do solo. Devido a este cenário, solos superficiais são tradicionalmente mais estudados por diversas disciplinas, apesar da quantidade significativa de biomassa encontrada na sub-superfície. Assim sendo, a zona que se estende da rizosfera até o aquífero, ou zona vadosa, tem sido pouco estudada e os processos são ainda pouco conhecidos, em todos os aspectos [1] [2], e em particular no que diz respeito a solos tropicais. A necessidade de elucidar alguns fenômenos importantes na área de geotecnia levou ao estudo do papel da química e da mineralogia nas propriedades e no comportamento de solos; no entanto, poucos estudos avaliaram a extensão, a importância e a utilidade dos processos biológicos na geo-engenharia. Considerando os avanços recentes da microbiologia ambiental, torna-se relevante avaliar a importância de estudos nas interfaces entre geotecnia e biologia que podem ser úteis na pesquisa e na prática da engenharia ambiental [3][4].

Solos residuais jovens apresentam frequentemente vestígios da estrutura da rocha-mãe que lhes deu origem. Segundo seu grau de intemperismo, sua heterogeneidade pode ter grande importância no que diz respeito à distribuição de ar e água, o que influencia diretamente a distribuição de oxigênio e nutrientes disponíveis para as populações microbianas autóctones. A relação da distribuição espacial de populações e atividade microbianas com a composição mineralógica e a estrutura de solos tropicais ainda é pouco investigada até o momento [5][6]. Outrossim, solos residuais brasileiros têm características diferentes dos solos sedimentares do hemisfério Norte, onde se faz grande parte da pesquisa nessa área.

Outro aspecto é crucial em uma das mais importantes questões presentes e futuras do mundo industrializado: o papel dos sistemas biológicos, e em particular dos microrganismos, na solução dos problemas de contaminação ambiental. De fato, devido a sua função de ciclagem da matéria orgânica natural, a microbiota ambiental tem a capacidade de seqüestrar e degradar compostos xenobióticos, usando-os como substrato para seu metabolismo. Em particular, a atenuação natural vem sendo muito utilizada na remediação de áreas contaminadas, dando considerável importância aos processos envolvidos na biodegradação de contaminantes. Assim sendo, avaliar o estado metabólico da microbiota permite monitorar processos de biodegradação [7][5]. No entanto, as condições ambientais, assim como a composição e estrutura do solo, são determinantes na distribuição, composição e atividade da microbiota, evidenciando a necessidade de avaliar o solo como suporte para seu crescimento [8][9][10][11][12].

2 - OBJETIVOS

O estudo descreve as principais feições de um solo residual jovem do Rio de Janeiro sob enfoque mineralógico, químico e geotécnico, relacionando essas características às da população microbiana, com o objetivo de avaliar os efeitos das condições climáticas sobre as propriedades do solo e como eventuais modificações neste podem afetar os parâmetros microbianos e, conseqüentemente, a ciclagem do carbono. O potencial de degradação de alguns hidrocarbonetos de petróleo (HCPs) foi avaliado em ambas as feições estudadas.

3 - METODOLOGIA

3.1 - Solo

Trata-se de um solo residual jovem de rocha metamórfica de gnaiss, coletado em um perfil de intemperismo da região metropolitana do Rio de Janeiro. As estruturas e características da rocha mãe são encontradas no solo, o qual apresenta grande heterogeneidade na profundidade do estudo (3 m). Duas principais feições, uma siltosa (S) e outra arenosa (A), são encontradas, conforme descrito anteriormente [13]. As feições estão dispostas em áreas extensas, cobrindo vários metros, onde foram feitas as coletas e medidas.

3.2 - Coletas

Aconteceram ao longo de dois anos, em um talude da rodovia Washington Luís, Duque de Caxias. Os solos foram retirados na profundidade de aproximadamente 3m, em diferentes épocas do ano, contemplando situações climáticas diversas. Foram coletadas duas amostras de solo siltoso e duas de arenoso, sempre retiradas dos mesmos locais.

3.3 - Caracterização

A caracterização geotécnica (granulometria, limites de liquidez e porosidade) seguiu as normas da ABMS. A mineralogia dos solos foi feita no CNPS, Embrapa-Solos. Medidas de carbono disponível (Cdisp) foram determinadas segundo o método de oxidação com permanganato de potássio [14][15].

A permeabilidade e as curvas características foram determinadas no campo, nas duas feições, com tensiômetro e permeâmetro de Guelph (Soil Moisture).

O potencial microbiano de degradação foi avaliado por medidas de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) [16][17], enquanto a atividade de incorporação de leucina tritiada [18] forneceu informações sobre a capacidade de síntese protéica da microbiota. Medidas de biomassa bacteriana (Cmic) foram feitas pelo método de fumigação-extração [19][20].

3.4 - Degradação de xenobióticos

O potencial degradador de cada feição foi avaliado para dois hidrocarbonetos de petróleo (HCPs) de grande importância ambiental: óleo cru (MF380) e gasolina, sem e com etanol (20% v/v de etanol, conforme utilizada no Brasil).

A biodegradabilidade dos compostos foi determinada mediante adaptação da metodologia do teste CEC L-33-A-93 [21][22]. A população cultivável autóctone sofreu bioaugmentação no laboratório, mediante incubação por 48 horas em meio de cultura, resultando em uma suspensão de 10^8 células/mL de meio. Amostras de cada feição de solo foram incubadas na presença dos contaminantes após a inoculação da suspensão microbiana e o ajuste da umidade para 50% da capacidade de campo. A degradação intrínseca e a final foram determinadas nos 10º e 30º dias de incubação, respectivamente. Foram feitos 4 testes no total.

As análises de óleo foram feitas por gravimetria, após extração com solução de clorofórmio-metanol 1:1, segunda adaptação de Diaz-Ramirez et al [23].

Foi determinado igualmente o Número Mais Provável (NMP) de bactérias degradadoras desses compostos em cada feição, o que permite quantificar as estirpes cultiváveis com capacidade de utilizar os xenobióticos como fonte de carbono e energia, promovendo dessa forma sua degradação. A metodologia utilizada foi descrita por Braddock & Catterall [24]: amostras de solo foram incubadas em microplacas com meio mineral mínimo, na presença de óleo cru, de gasolina e de gasolina com etanol.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados mostram a relação da biomassa e atividade microbianas com teor, disponibilidade e utilização do C, assim como a relação entre sua distribuição nas duas feições e as características físico-químicas do solo.

Amostras moldadas e indeformadas coletadas para análises mostram a presença de duas feições principais, uma siltosa e outra arenosa, a primeira sendo predominante na profundidade da coleta. Ambas as feições apresentam baixos teores de argilas e de carbono orgânico. O solo apresenta camadas alternadas com porosidade e permeabilidade diferenciadas, provenientes da rocha-mãe, rica em biotita e feldspato.

Na tabela 1 são apresentados os índices físico-químicos de cada uma das feições, evidenciando as granulometrias diferenciadas que caracterizam as classificações de arenosa e siltosa. Na feição arenosa, de coloração mais clara, alguns pontos pretos indicam a presença de óxido de manganês. Além do quartzo, é constituída de feldspato potássio e biotita em várias fases de alteração. A feição siltosa, mais homogênea, tem coloração avermelhada com resíduos da rocha

original, componentes esbranquiçados e esverdeados. A figura 1 mostra as curvas granulométricas diferenciando as duas feições: um solo siltoso, com um teor médio de 72% de finos, o outro arenoso, contendo em média 57% de areia. Uma observação importante é o índice de vazios um pouco maior no solo siltoso, sendo este um solo mal graduado, como observado na curva granulométrica (Fig. 1). Observa-se em geral uma diferença na umidade, a qual varia segundo a época de coleta, oscilando entre 5 e 12 pontos percentuais, sendo o índice de plasticidade o que mais se diferencia.

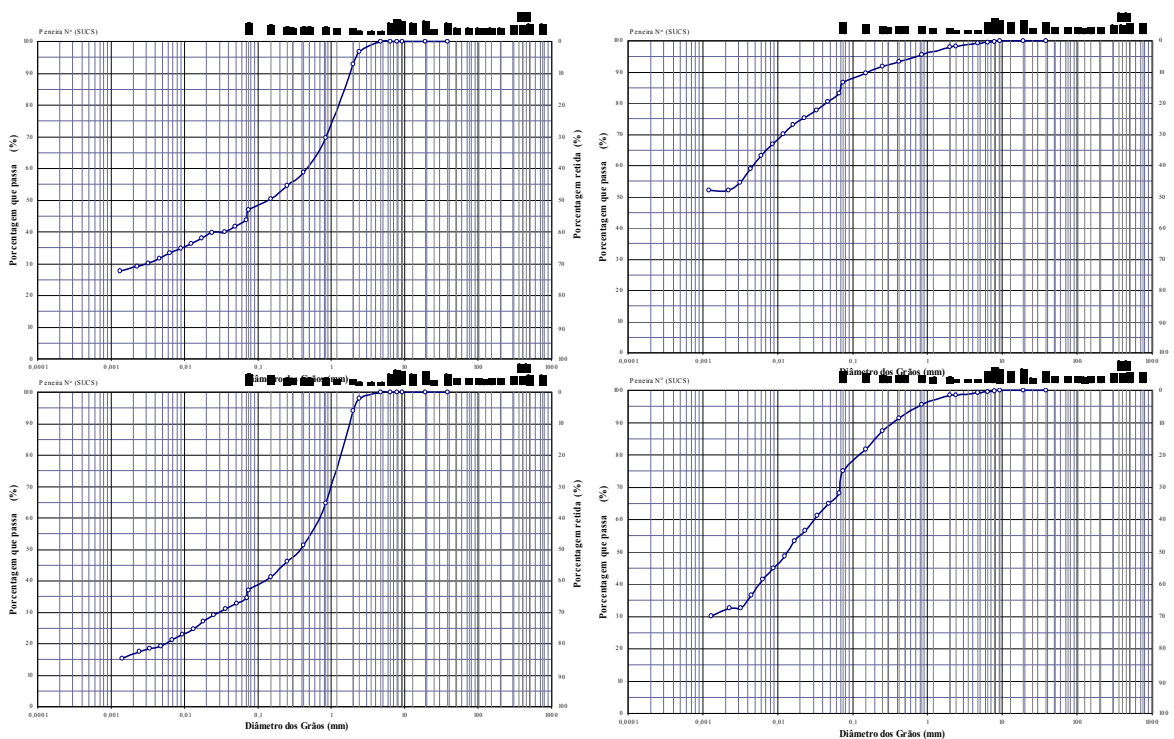


Figura 1 – Curvas granulométricas das duas feições (arenosas à esquerda, siltosas à direita)

As diferenças observadas na mineralogia não se apresentam significativas em geral, com exceção do ferro. Já o C_{disp} mais importante na feição siltosa é relevante.

As variações climáticas ao longo dos dois anos, essencialmente, variações na pluviosidade e na temperatura externa, não parecem gerar modificações importantes nas características físico-químicas do solo, evidenciando a proteção do ambiente subterrâneo às variações das condições climáticas. As coletas que sucederam a épocas de muita chuva foram as de janeiro de 2007 e de

As curvas características das duas feições (Fig. 3) mostram a maior permeabilidade do solo arenoso; a retenção maior da água no solo siltoso leva a velocidades menores no campo nessa feição [25] quando o solo está saturado. Os efeitos da velocidade da água e da permeabilidade do solo têm um papel crucial no transporte de nutrientes e de microrganismos, assim como na sobrevivência destes últimos, seja quando em suspensão na fase líquida ou quando fixos na superfície do meio poroso. No entanto, em condições não saturadas, observa-se uma inversão nessa propriedade, o solo

siltoso apresentando maior permeabilidade quando não saturado do que o arenoso (Fig. 3; tabela 2). Essa característica, freqüente em solos residuais, pode levar a uma alteração no ambiente do solo em função da intensidade das precipitações: enquanto as condições forem não saturadas, o solo arenoso tenderá a reter mais a água que entra no solo, propiciando condições diferentes para a microbiota em relação à feição siltosa.

Tabela 1 – Características físicas e mineralogia das duas principais feições do solo.

arenosas A		siltosas S		
média	dv pad	média	dv pad	
0,000	0,000	0,000	0,000	Pedregulho Grosso
0,014	0,024	1,144	1,387	Pedregulho Médio
5,765	0,639	1,693	0,978	Pedregulho Fino
33,73	1,593	4,357	0,750	Areia Grossa
12,69	1,414	5,327	2,710	Areia Média
10,20	3,064	14,17	5,853	Areia Fina
16,83	6,083	31,38	7,067	Silte
20,78	6,174	40,92	13,04	Argila
53,75	3,754	69,98	8,636	Limite de Liquidez
32,91	1,665	44,07	0,086	Limite de Plasticidade
20,85	2,089	25,91	8,722	Índice de Plasticidade
44,93		48,03		Porosidade *
0,82		0,93		Índice de vazios *
2,638	0,003	2,769	0,001	densidade média dos grãos: Gs
2,642	0,003	2,774	0,001	dens. relativa média dos grãos: Gds
4,9		4,6		pH
0	0	0	0	Ca ²⁺
2,83	0,408	2,5	0,548	Mg ²⁺
0,02	0,009	0,01	0,000	K ⁺
0,05	0,035	0,073	0,111	Na ²⁺
0,333	0,052	0,267	0,052	soma: S
0,967	0,441	0,85	0,345	Al ³⁺
1,433	0,509	2,467	0,441	H ⁺
3,133	1,359	3,583	0,496	soma: T
0,925	0,236	1,25	0,173	Corg
0,15	0,058	0,2	0,000	N
7	3,651	6	1,155	C / N
1,5	0,548	1,167	0,408	P assimilável
164	43,3	259,8	27,79	SiO ₂
226,5	28,75	238,8	8,539	Al ₂ O ₃
39,5	12,91	120	8,679	Fe ₂ O ₃
2,1	1,182	14,33	4,13	TiO ₂
0,233	0,059	0,7	0	K ₂ O ₅
0,05	0,071	0,2	0	MnO
1,218	0,198	1,845	0,159	Ki = SiO ₂ /Al ₂ O ₃
1,098	0,188	1,395	0,101	Kr = SiO ₂ /R ₂ O ₃
9,688	2,685	3,13	0,2	Al ₂ O ₃ /Fe ₂ O ₃
0,158	0,036	0,334	0,178	Cdisp

Épocas de precipitações intensas (novembro/06 e janeiro/07) acarretam mudanças no teor de água dos solos (fig. 4), mais acentuadas e persistentes no siltoso. Solos arenosos apresentam, em

geral, menor teor de umidade do que solos mais orgânicos e/ou mais finos. As duas feições estudadas apresentam essa propriedade quando em condições saturadas, conforme mencionado: o solo deste estudo apresenta uma inversão dessa propriedade quando não saturado (fig.3), conforme determinado nas medidas de campo, e a feição arenosa tende a reter mais a água, diminuindo sua velocidade na matriz do solo, o oposto ocorrendo na feição siltosa.

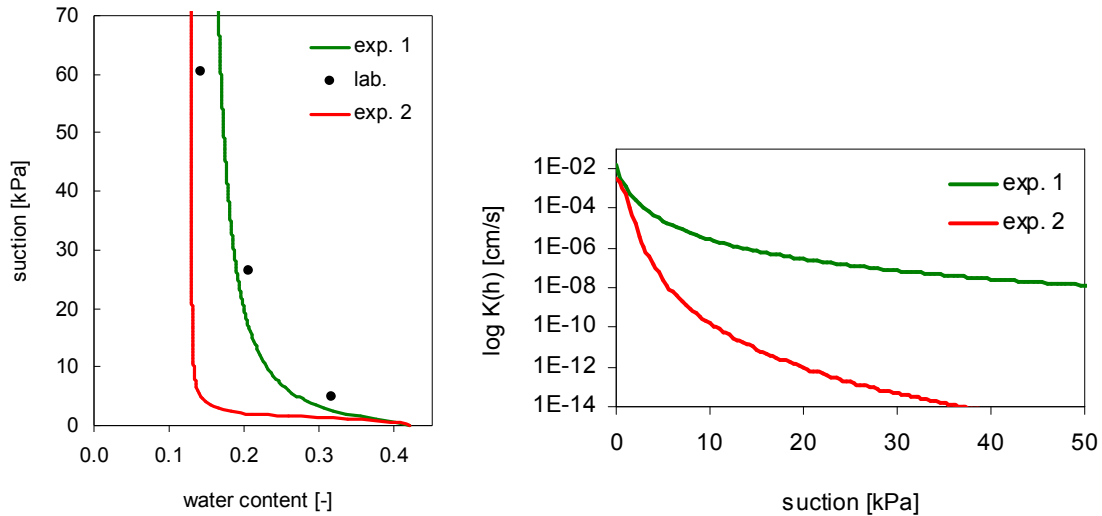


Figura 3 - Curvas características: solos saturados (esquerda) e não saturados (direita) - exp 1 = solo siltoso; exp2 = solo arenoso.

Tabela 2. Parâmetros do modelo de Van Genuchten estimados (Velloso, 2006)

Parâmetros	Solo siltoso	Solo arenoso
qr [-]*	0,13	0,13
qs [-]*	0,42	0,42
a [cm-1]	0,086	0,071
n [-]	3,17	1,53
ks [cm/s]	$3,04 \times 10^{-3}$	$1,67 \times 10^{-2}$

*parâmetros fixos

No estudo conduzido no talude, as condições não saturadas prevaleceram; em épocas de grande pluviosidade, no entanto, enquanto o solo arenoso permaneceu não saturado, o solo siltoso atingiu praticamente a condição de saturado (janeiro/07, fig. 4), passando a apresentar maior retenção da água. Com o aumento do aporte de água da superfície, ambos os solos tiveram sua umidade aumentada (fig.4), sendo esse aumento mais acentuado proporcionalmente no solo arenoso. O solo arenoso apresenta então, nesse caso, melhores condições de umidade assim como de retenção de nutrientes carregados da superfície; enquanto o solo siltoso passa igualmente a reter

mais água devido a estar perto da saturação. No entanto, não há aumento na disponibilidade do carbono no solo arenoso (fig.5), enquanto o C_{disp} aumenta consideravelmente no solo siltoso, provavelmente por este ter maior quantidade de C total. O aumento da umidade se traduz por um aumento da atividade degradadora em ambos os solos (fig. 6), mais acentuado no arenoso. No entanto, a atividade de síntese protéica aparece menor após o período de chuva (fig. 7), assim como a biomassa (fig. 8), sugerindo uma queda na eficiência da microbiota na assimilação do carbono.

Seria possível também que o carbono disponibilizado com o aumento de umidade e de atividade degradadora tenha sido utilizado ou imobilizado na matriz do solo pela microbiota [26], o que poderia se traduzir por uma atividade de síntese protéica e/ou uma biomassa aumentadas [8][11][27][28], o que não foi observado. Esse resultado vai ao encontro dos resultados anteriores, sugerindo que a retenção maior de água no solo arenoso estimula a microbiota, porém poderia de alguma forma impactar a assimilação do C, talvez pela circulação de água, logo, de nutrientes, diminuída. A atividade aumentada sem aumento de síntese protéica nem de biomassa sugere uma alocação do C no solo, a qual ocorreria em épocas de maior umidade. Estudos mais focados podem vir a esclarecer essa questão.

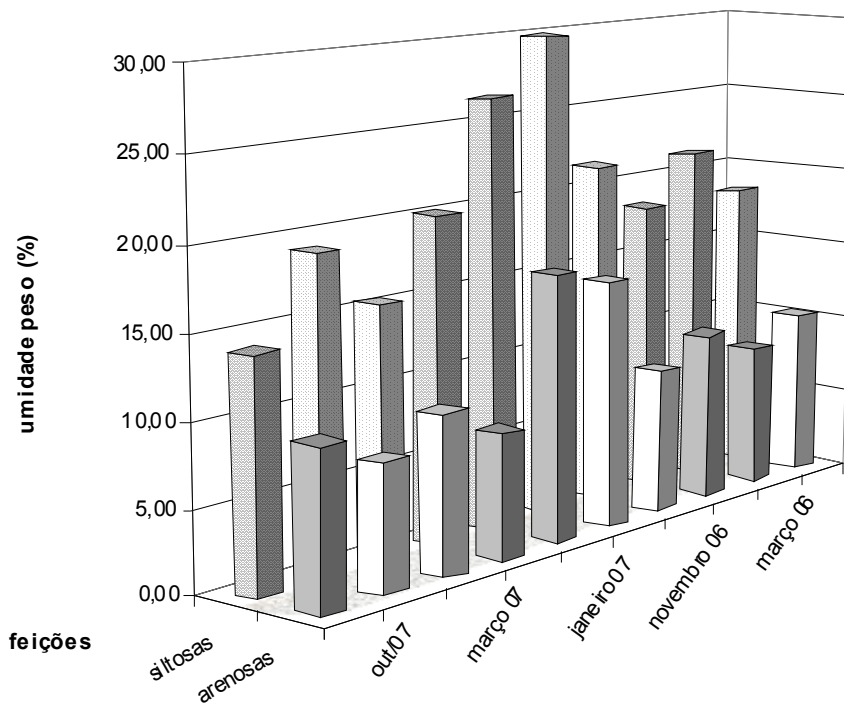


Figura 4 – Umidade em peso nas feições de solo.

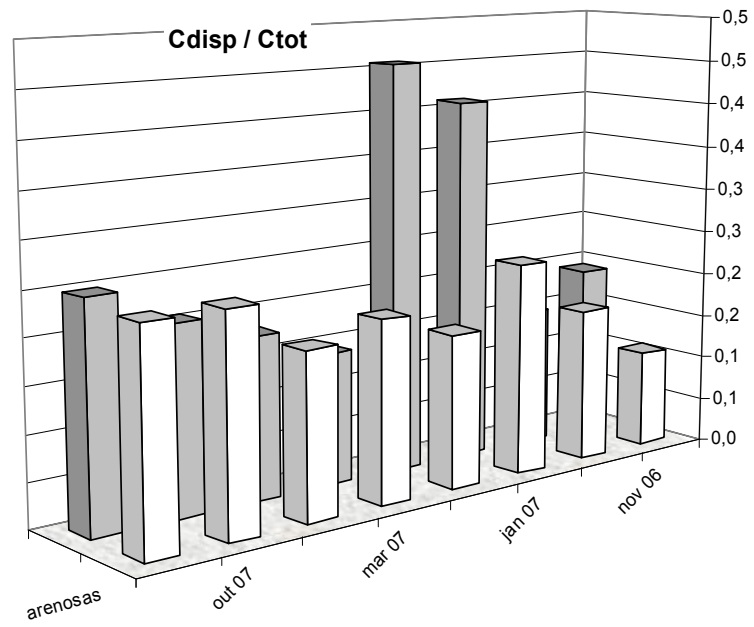


Figura 5 – Relação C disponível / C total nos solos

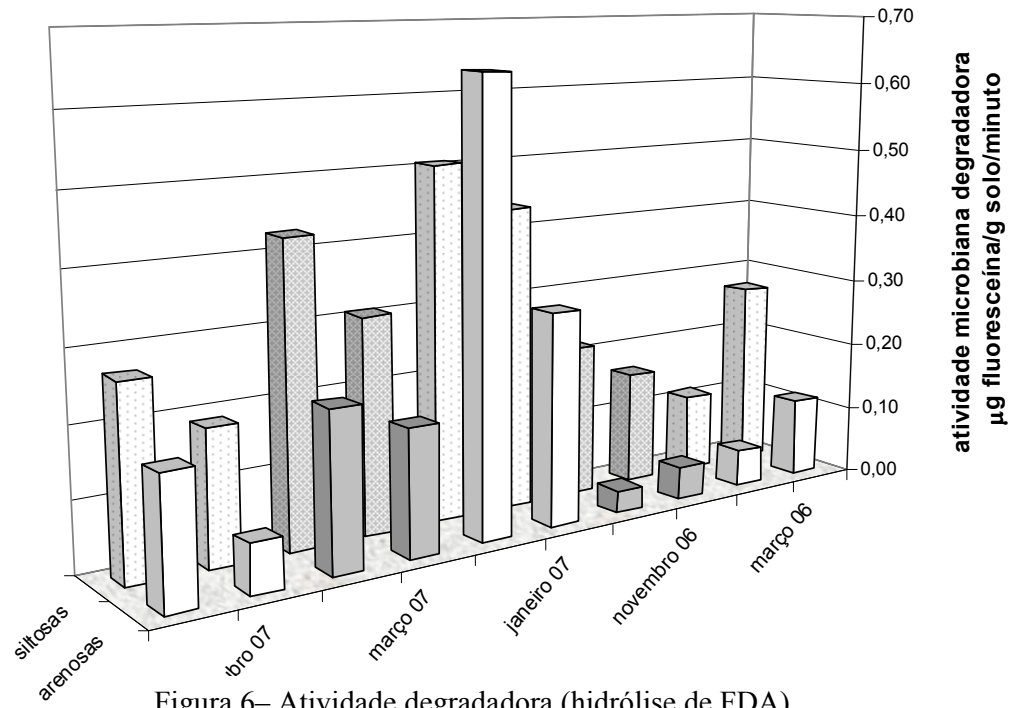


Figura 6– Atividade degradadora (hidrólise de FDA)

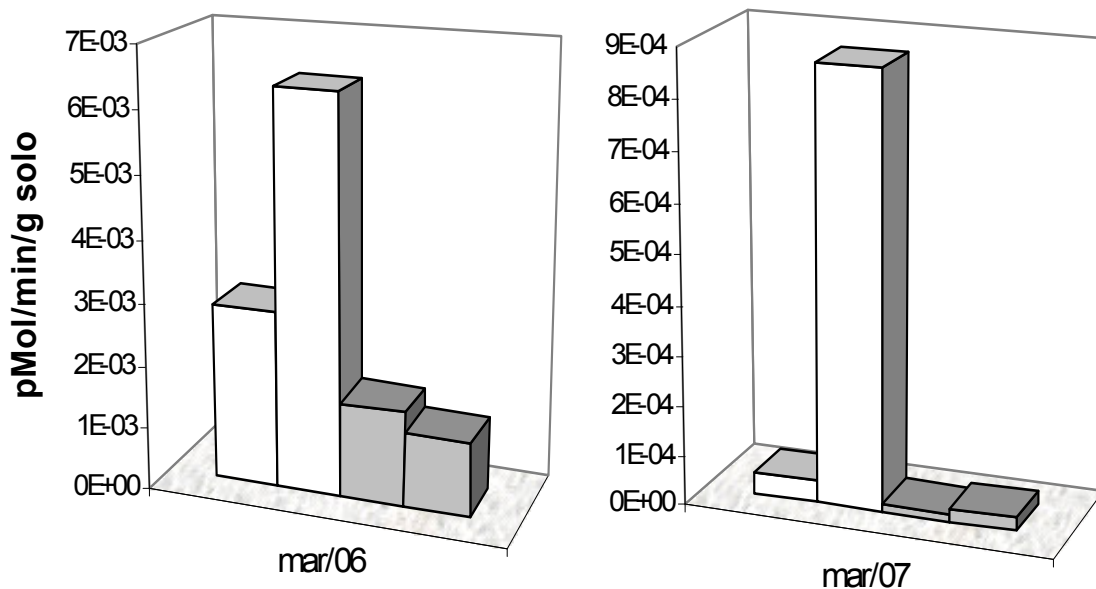


Figura 7 – Atividade de síntese protéica (incorporação de leucina)

As medidas de biomassa (fig. 6), em geral mais elevadas na feição siltosa, mostram o efeito da umidade mas não apresentam correlação com o C_{disp} . A biomassa cai em ambos os solos após épocas de maior umidade do solo (março/07), apresentando igualmente uma inversão em relação a épocas de menos chuva, com maior biomassa na feição siltosa. A feição arenosa, apesar de sua menor atividade degradadora, menor teor de C orgânico e de água, suporta uma microbiota mais eficiente na assimilação do C, o qual está proporcionalmente mais disponível e mais alocado na biomassa em épocas de menor pluviosidade (março/06), conforme mostra o quociente microbiano (Q_{mic} – tab. 3), fatores possivelmente ligados à melhor distribuição de ar e às velocidades menores de água e, conseqüentemente, de nutrientes. Em épocas de maior umidade do solo, após períodos de chuva intensa (março e outubro/07) o quociente microbiano mostra maior quantidade de C alocado na biomassa do solo siltoso.

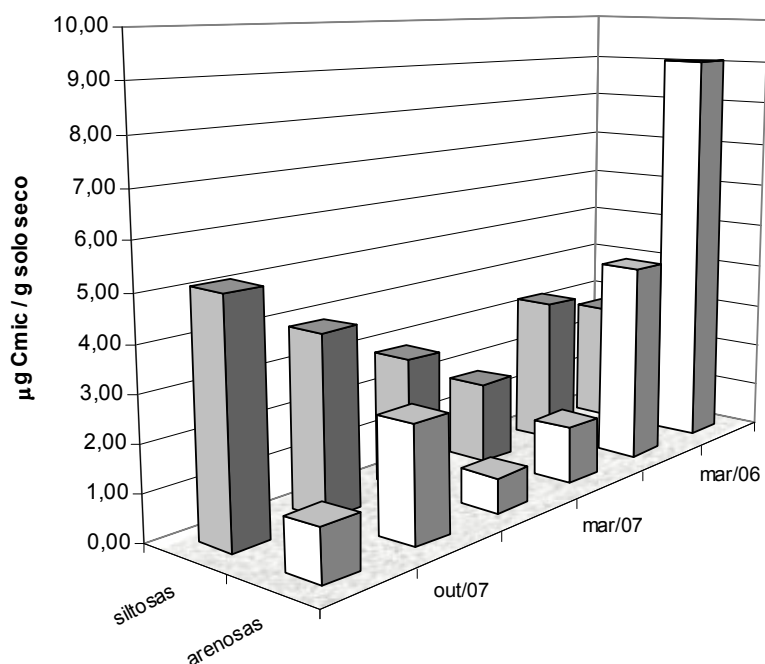


Figura 8 – Biomassa microbiana

Tabela 3 – Quociente microbiano

	arenosas	siltosas
março 06	11,10	2,00
março 07	5,44	2,399
outubro 07	1,55	1,31
	0,928	2,098
	1,577	2,829
	1,187	3,710

A determinação do NMP (tab. 4) apresenta populações cultiváveis degradadoras em ambas as feições para os HCPs estudados (óleo cru, gasolina e gasolina-etanol). Observa-se a população heterotrófica cultivável três ordens de grandeza mais elevadas do que as degradadoras de gasolina (sem e com etanol), e quatro ordens de grandeza maior do que as cultiváveis degradadoras de óleo, mostrando o impacto da contaminação sobre a população, maior no caso do óleo, assim como a seleção de populações especializadas. Em todos os casos de contaminação, as feições arenosas apresentaram populações cultiváveis mais elevadas, sugerindo maior número de estirpes menos especializadas. Foram observadas também populações menores nos solos contaminados com gasolina-etanol em relação aos com gasolina. Este resultado poderia ser devido à degradação constitutiva do etanol; de fato, esta ocorre de imediato e não requer a ativação nem síntese de enzimas específicas, enquanto a degradação dos BTEX apresenta uma fase de adaptação da

microbiota [29][30]. Devido a esse atraso na iniciação da degradação da gasolina o etanol está presente, no período de incubação da análise (5 dias), seria possível não haver tempo para o desenvolvimento total da população degradadora de BTEX quando. A população mais baixa de degradadores de óleo cru desenvolvida na análise pode ser devido à natureza mais pesada e mais tóxica desse contaminante, demandando mais tempo para a adaptação da microbiota, que, no entanto, é degradável pelas populações autóctones do solo estudado [31].

Tabela 4 – Número Mais Provável de populações degradadoras cultiváveis em solo não contaminado e em amostras contaminadas com HCPs (UFC x g⁻¹ de solo)

Heterotróficos totais		Degradadores BTEX		Degradadores BTEX-etOH		Degradadores óleo MF 380	
			média		média		média
S1	1,6 x 10 ⁵	412,5	700	287,5	350	25	30
S2		987,5		412,5		35	
A1		1750	1162,5	412,5	800	160	99
A2		575		1187,5		38	

Os ensaios de biodegradação do óleo MF 380 mostraram que ambas as feições têm populações com um bom potencial para a degradação, sendo, no entanto, a feição arenosa a que suporta uma população mais eficiente, conforme já observado para a utilização do C natural.

A tabela 5 mostra a biodegradabilidade intrínseca, primária e final de óleo cru de cada feição, com a degradação mais rápida na feição arenosa. O óleo apresenta rápida biodegradabilidade na feição arenosa somente (>40% de degradação em 10 dias), enquanto nenhuma das duas feições apresentou biodegradabilidade final satisfatória para esse composto (< 80% de degradação em 30 dias). Ambas as feições têm capacidade intrínseca para a degradação do óleo (entre 20 e 70% de degradação em 30 dias)

Tabela 5 – Teores de óleo cru (MF380) nos ensaios de biodegradabilidade (média ± 1 desvio padrão)

	início	10 dias	30 dias	% degradação	
				10 dias	30 dias
A1	6330 ± 685,8	3727,3 ± 1962	2997 ± 2001	41,12	52,65
A2	6156 ± 198,0	3375,3 ± 1747	2823 ± 1469	45,17	54,14
S1	5973 ± 861,4	6091 ± 1009	3582 ± 1835	0,00	40,03
S2	6283 ± 1851	5528 ± 800	3856 ± 2060	12,02	38,63

5 - CONCLUSÕES

O estudo mostra que a granulometria do solo parece ser, na área estudada, um fator determinante na influência sobre a distribuição e a intensidade da atividade microbiana, devido ao seu papel na retenção e circulação de água assim como na aeração das diferentes feições do solo. Assim sendo, a feição de solo mais arenosa, mesmo com menor quantidade de C orgânico, abriga uma população microbiana mais eficiente na utilização do carbono e sua incorporação na biomassa microbiana, em épocas de menos chuva, o contrário acontecendo quando o solo recebe mais água.

Ambas as feições apresentam potencial para degradar gasolina e gasolina com etanol, assim como para degradar óleo cru. A determinação de populações cultiváveis, heterotróficas e degradadoras, apesar de suas reconhecidas limitações, fornecem informações que podem ser relevantes em uma avaliação preliminar de uma situação de contaminação, em função, inclusive, do tipo de solo envolvido.

A integração inovadora de áreas que contemplam o meio ambiente, geotecnia, microbiologia de solo, geologia, química e agronomia, mostra a importância dessas interfaces, enquanto estudos multi-disciplinares fornecem ângulos diversos para uma melhor compreensão dos processos ambientais.

6 - AGRADECIMENTOS

A Marcio Miranda e Branca Delmonte pela ajuda com as análises de incorporação de leucina e de biomassa, respectivamente; Amaury Fraga pelo apoio no campo e nos ensaios; às agências financiadoras: CNPq, Faperj e PRONEX.

7 - BIBLIOGRAFIA

- [1] Fredrickson, J. K., Li, S. W., Brockman, F. J., Haldeman, D. L., Amy, P. S. & Balkwill, D. L. 1995. Time-dependent changes in viable numbers and activities of aerobic heterotrophic bacteria in subsurface samples. *J. Microbiol. Meth.* 21, 253-265.
- [2] Krumholz, L.R. (2000) Microbial communities in the deep subsurface. *Hydrogeol. J.* 8:4-10.
- [3] Holden, P.A. & Fierer, N. (2005) Microbial processes in the vadose zone. *Vadose Zone J.* 4, 1-21.
- [4] Mitchell, J.K. & Santamarina, J.C. (2005) Biological considerations in geotechnical engineering. *J. Geotechn. Geoenviron. Eng.* ASCE 31(10) 1222-1233.
- [5] Ladd, C.N., Foster, R.C., Nannipieri, P. & Oades, J.M. (1996) Soil structure and biological activity. In: G. Stotzky & J.-M. Bollag, eds., *Soil Biochemistry* vol. 9. Marcel Dekker, New

York, pp23-78.

- [6] Murphy, E. M. & Ginn, T. R. (2000) Modeling microbial processes in porous media. *Hydrogeol. J.* 8:142-158.
- [7] Anderson, T.-H. (2003) Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 98, 285-293.
- [8] Blume, E., Bischoff, M., Reichert, J. M., Moorman, T., Konopka, A. & Turco, R. F. (2002) Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Appl. Soil Ecol.* 20, 171-181.
- [9] Brockman, F.J. & Murray, C.J. (1997) Subsurface microbiological heterogeneity: current knowledge, descriptive approaches and applications. *FEMS Microbiol Rev* 20, 231-247.
- [10] Fierer, N., Schimel, J.P. & Holden, P. A. (2003) Variations in microbial community composition through two soil depths profiles. *Soil Biol. Biochem.* 35, 167-176.
- [11] Ranjard, L. & Richaume, A. (2001) Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Res. Microbiol.* 152, 707-716.
- [12] Waldrop, M. P., Balser, T. C. & Firestone M.K. (2000) Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1837-1846.
- [13] Österreicher-Cunha, P., Vargas Jr., E. A., Guimarães, J. R. D., de Campos, T. M. P., Nunes, C. M. F., Costa, A., Antunes, F. S., Pais da Silva, M. I. & Mano, D. M. (2004) Bioventing of a gasoline-ethanol contaminated undisturbed soil. *Journal of Hazardous Materials* 110, 63-76.
- [14] Blair, G.J., Lefroy, R.D.B. & Lisle, L. (1995) Soil carbon fractions based on their degree of oxidation and the development of a carbon management index for agricultural systems. *Aust. J. Agric. Res.* 46, 1459-1466.
- [15] Tirol-Padre A & Ladha, JK. (2004) Assessing the Reliability of Permanganate-Oxidizable Carbon as an Index of Soil Labile Carbon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:969–978.
- [16] Adam, G. & Duncan, H. (2001) Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol. Biochem.* 33:943-951.
- [17] Green V.S., Stott D.E., Diack M. (2006) Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biology & Biochemistry* 38 (2006) 693–701.
- [18] Miranda, MR, Guimarães JRD, Coelho-Souza AS. (2007) [³H]leucine incorporation method as a tool to measure secondary production by periphytic bacteria associated to the roots of floating aquatic macrophytes. *Journal of Microbiological Methods* 71(1) 23-31.
- [19] Grace, C., Hart, M. & Brookes P.C. (2003) *Laboratory Manual of the Soil Microbial Biomass Group*. Rothamsted Research.
- [20] Jörgensen, R. G. & Brooks, R. G. (1990) Ninhidrin-reactive nitrogen measurements of

- microbial biomass in 0,5 M K₂SO₄ soil extracts. *Soil Biol. Biochem.* 22,1023-1027.
- [21] Battersby, N.S. & Morgan, P. (1997) A note on the use of the CEC L-33-A-93 test to predict the potential biodegradation of mineral oil based lubricants in soil. *Chemosphere* 35(8) 1773-1779.
- [22] Haus, F., German, J., & Junter, G.-A. (2001) Primary biodegradability of mineral base oils in relation to their chemical and physical characteristics. *Chemosphere* 45, 983-990.
- [23] Diaz-Ramirez, I.J.; Ramirez-Saad, H.; Gutierrez-Rojas, M. & Favela-Torres, E. (2003) Biodegradation of Maya crude oil fractions by bacterial strains and a defined mixed culture isolated from *Cyperus laxus* rhizosphere soil in a contaminated site. *Canadian Journal of Microbiology* 49 (12) 755-761.
- [24] Braddock J.F. & Catterall, P.H. (1999) A Simple Method for Enumerating Gasoline- and Diesel-Degrading Microorganisms CRC Press LLC.
- [25] Velloso, R., Vargas Jr., E.A. & Barros fo., G.C. (2006) Desenvolvimento de procedimentos de campo para a determinação de propriedades hidráulicas de solos saturados/não saturados. XIII Cobramseg, Curitiba.
- [26] Jardine, P.M., Mayes, M.A., Mulholland, P.J., Hanson, P.J., Tarver, J.R., Luxmoore, R.J., McCarthy, J.F. & Wilson, G.V. (2006) Vadose zone flow and transport of dissolved organic carbon at multiple scales in humid regimes. *Vadose Zone J.* 5, 140-152.
- [27] Wang, WJ, Dalal, RC, Moody, PW & Smith, CJ. (2003) Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. *Soil Biol Biochem* 35, 273-284.
- [28] Yang, C., Yang, L. & Ouyang, Z. (2005) Organic carbon and its fractions in paddy soil as affected by different nutrient and water regimes. *Geoderma* 124, 133-142.
- [29] Corseuil, H., Hunt, C., Ferreira dos Santos, R. C. & Alvarez, P. J. J. (1998) The influence of the gasoline oxygenate ethanol on aerobic and anaerobic BTX degradation. *Water Res.* 32(7) 2065-2072.
- [30] Österreicher-Cunha, P., Guimarães, J. R. D., Vargas Jr., E. A. & Pais da Silva, M. I. (2006) Studies of biodegradation processes of BTEX-ethanol mixture in tropical soil. *Water Air and Soil Pollution*, 181 (1-4), 303-317.
- [31] Tapajós, P.A. & Österreicher-Cunha, P., Guimarães, Miranda, M. R., J. R. D., Pais da Silva, M. I. & de Campos, T. M. P. (2005) Aspectos microbiológicos da biodegradação de óleo cru em solo tropical. 23 a Conferência de Engenharia Sanitária e Ambiental, VI 241.