

Série Tecnologia Ambiental

Uso da Metagenômica no Estudo de Solos Multicontaminados com Hidrocarbonetos e Metais

Natália Franco Taketani

Rodrigo Gouvêa Taketani

Cláudia Duarte da Cunha

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Itamar Soares de Melo

Selma Gomes Ferreira Leite

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

**Uso da Metagenômica no Estudo de Solos
Multicontaminados com Hidrocarbonetos e Metais**

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Michel Miguel Elias Temer Lulia

Presidente

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

Gilberto Kassab

Ministro de Estado da Ciência, Tecnologia, Inovações e
Comunicações

Elton Santa Fé Zacarias

Secretário-Executivo

Luiz Henrique da Silva Borda

Coordenador-Geral das Unidades de Pesquisa e Organizações
Sociais

CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL

Fernando Antonio Freitas Lins

Diretor

Arnaldo Alcover Neto

Coordenador de Análises Minerais

Claudio Luiz Schneider

Coordenador de Processos Minerais

Durval Costa Reis

Coordenador de Administração

Robson de Araújo D'Ávila

Coordenador Substituto de Planejamento, Gestão e Inovação

Francisco Wilson Hollanda Vidal

Coordenador de Apoio Tecnológico às Micro e Pequenas Empresas

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Coordenadora de Processos Metalúrgicos e Ambientais

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

ISSN 0103-7374

ISBN – 978-85-8261-058-9

STA - 91

Uso da Metagenômica no Estudo de Solos Multicontaminados com Hidrocarbonetos e Metais

Natália Franco Taketani

Microbiologista – Doutoranda EQ/UFRJ (CETEM/MCTIC)

Rodrigo Gouvêa Taketani

Microbiologista – D. Sc. (Embrapa Meio Ambiente)

Cláudia Duarte da Cunha

Eng. Química, D.Sc. (CETEM/MCTIC)

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Eng. Química, D. Sc. (CETEM/MCTIC)

Itamar Soares de Melo

Eng. Agrônomo, D. Sc. (Embrapa Meio Ambiente)

Selma Gomes Ferreira Leite

Eng. Química, D. Sc. (EQ/UFRJ)

CETEM/MCTIC

2016

SÉRIE TECNOLOGIA AMBIENTAL

Luis Gonzaga Santos Sobral

Editor

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Subeditora

CONSELHO EDITORIAL

Marisa Bezerra de M. Monte (CETEM), Paulo Sergio M. Soares (CETEM), Saulo Rodrigues P. Filho (CETEM), Silvia Gonçalves Egler (CETEM), Vicente Paulo de Souza (CETEM), Antonio Carlos Augusto da Costa (UERJ), Fátima Maria Zanon Zotin (UERJ), Jorge Rubio (UFRGS), José Ribeiro Aires (CENPES), Luis Enrique Sánches (EPUSP), Virginia Sampaio Ciminelli (UFMG).

A Série Tecnologia Ambiental divulga trabalhos relacionados ao setor minerometalúrgico, nas áreas de tratamento e recuperação ambiental, que tenham sido desenvolvidos, ao menos em parte, no CETEM.

O conteúdo desse trabalho é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Valéria Cristina de Souza

Coordenação Editorial

Editoração Eletrônica

Revisão

Natália Franco Taketani

Cláudia Duarte da Cunha

Taketani, Natália Franco

Uso da metagenômica no estudo de solos multicontaminados com hidrocarbonetos e metais / Natália Franco Taketani [et al.]. —Rio de Janeiro: CETEM/MCTIC, 2016.

38p.: il. (Série Tecnologia Ambiental, 91)

1. Biorremediação. 2. Metagenômica. 3. Multicontaminação
I. Centro de Tecnologia Mineral. II. Taketani, Rodrigo Gouvêa.
III. Cunha, Cláudia Duarte da. IV. Rizzo, Andréa Camardella de Lima.
V. Melo, Itamar Soares VI. Leite, Selma Gomes Ferreira. VII. Título.
VIII. Série.

CDD – 661.81

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 FERRAMENTAS MOLECULARES NO MONITORAMENTO DO SOLO	13
2.1 Metagenômica	16
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMO

O uso contínuo de hidrocarbonetos de petróleo, como a principal matriz energética no último século, vem gerando um passivo ambiental que envolve não só a contaminação por hidrocarbonetos, mas também por metais pesados, que além de pertencerem à composição natural do petróleo podem estar associados em processos industriais como o uso de catalizadores de refino, por exemplo. O aumento destes materiais no ambiente impulsionou o desenvolvimento de diferentes técnicas de tratamentos. O uso de micro-organismos para a degradação de hidrocarbonetos é conhecido como biorremediação; porém, esta técnica acaba sendo afetada pela presença de substâncias tóxicas como os metais pesados. O efeito negativo destes metais na biodegradação de hidrocarbonetos gerou a necessidade de uma compreensão mais profunda da dinâmica populacional dos micro-organismos, assim como das variações dos genes funcionais presentes em solos sob tais condições. As metodologias microbiológicas baseadas em cultivo são bastante limitadas, isto gera a necessidade do uso de técnicas moleculares que são capazes de gerar informações globais, tanto sobre o comportamento taxonômico, quanto dos genes funcionais dos micro-organismos. Para tal, a metagenômica incorpora ambas as habilidades nos permitindo compreender mais profundamente tais dinâmicas e possibilitando o desenvolvimento de estratégias de tratamentos de solos contaminados mais eficientes.

Palavras-chave

Biorremediação, Metagenômica, Multicontaminação, Hidrocarbonetos, Metais.

ABSTRACT

The continued use of petroleum hydrocarbons as the main energy sources in the last century has generated an environmental liability that involves not only the hydrocarbon contamination but also by heavy metals that, in addition to belonging to natural composition of oil, may be associated in industrial processes as the use of refining catalysts, for example. The increase of these materials in the environment spurred the development of different techniques of treatments. The use of micro-organisms for degrading hydrocarbons is known as bioremediation, but this technique has just affected by the presence of toxic substances such as heavy metals considered. The negative effect of metals in the hydrocarbon biodegradation generated the need for a deeper understanding of the population dynamics of microorganisms, as well as the variations of functional genes present in soils under such conditions. Microbiological cultivation based methods are quite limited and creates the need for the use of molecular techniques that are able to generate more comprehensive information on both the taxonomic behavior as the functional genes of microorganisms. For such, metagenomic incorporates both abilities allowing us to understand more deeply these dynamics, enabling the development of contaminated soil treatment strategies more efficient.

Keywords

Bioremediation, Metagenomics, Multicontamination, Hydrocarbons, Metals

1 | INTRODUÇÃO

O petróleo é uma das maiores fontes de contaminação do meio ambiente, sendo uma importante fonte de contaminantes orgânicos e também inorgânicos. Elementos como o vanádio, arsênio e níquel, além dos compostos orgânicos, também são constituintes do petróleo. Os resíduos gerados pela indústria do petróleo não só oferecem grandes riscos ao meio ambiente, como à saúde pública (KNOX; GILMAN, 1997). Nadal e colaboradores (2007) monitoraram várias áreas de atividade industrial na Europa e concluíram que a atividade que mais contribuía para o aumento de metais no ambiente era a petroquímica.

Dados fornecidos pela USEPA (USEPA, 1996; USEPA, 2004) mostraram um aumento da contaminação de metais associados a compostos orgânicos de quase 300% de 1994 a 2003. A presença de compostos orgânicos influencia na mobilidade do metal no solo (GALVEZ-CLOUTIER; DUBE, 2002), prejudicando o tratamento destes poluentes no ambiente. Compostos orgânicos com maior viscosidade afetam, por exemplo, as técnicas de lavagem do solo e neste caso, portanto, os contaminantes orgânicos devem ser removidos prioritariamente para posterior remoção dos contaminantes inorgânicos (DERMONT *et al.*, 2008).

Os efeitos tóxicos e inibitórios dos metais pesados sobre o crescimento microbiano requerem atenção, uma vez que os íons metálicos, dependendo de sua natureza, concentração e disponibilidade irão interferir em atividades essenciais dos micro-organismos presentes no solo, assim como no processo de degradação dos compostos orgânicos (AMOR; KENNES; VEIGA, 2001).

Há vários métodos de tratamento de solos contaminados, tanto por processos físicos e/ou químicos quanto por biológicos. A biorremediação pode ser definida como um processo baseado no emprego de micro-organismos ou suas enzimas que sejam capazes de transformar substâncias tóxicas em substâncias menos ou não tóxicas. A biorremediação pode ser classificada como *in situ* (no local) ou *ex situ* (fora do local) e engloba diferentes técnicas, como o bioestímulo, que é a adição ou correção de nutrientes, umidade e oxigênio, importantes para os micro-organismos presentes no solo, entre outras (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

Ao contrário dos hidrocarbonetos, os metais não podem ser degradados. Uma das abordagens para a remediação de metais é a formação de complexos estáveis dos metais com biomassa microbiana (KRATOCHVIL; VOLESKY, 1998; LEDIN; PEDERSEN, 1996; VOLESKY, 1990; VOLESKY; HOLAN, 1995). Esses complexos geralmente são resultados de interações eletrostáticas entre os metais e os biopolímeros. Estas substâncias podem ser aplicadas a diferentes tecnologias (como, por exemplo, biofiltros) as quais exploram essa capacidade (GUTNICK; BACH, 2000).

Estes biopolímeros são moléculas naturais das estruturas celulares dos micro-organismos ou são produzidas propositalmente para exercer funções ligadas à adesão celular, agregação (floculação e biofilme), interação célula-célula, estruturação física de agregados, barreira protetora (retenção de água e sorção de xenobiontes), e formação de um ambiente favorável à atividade enzimática. Sua plasticidade funcional acaba por torná-las com um aspecto de grande interesse biotecnológico em diversas áreas (WINGENDER; NEU; FLEMMING, 2012).

As técnicas de remediação aqui citadas, assim como a capacidade do solo de exercer suas funções básicas, estão diretamente relacionadas à diversidade microbiana deste solo. A caracterização completa das comunidades microbianas do solo é difícil de ser realizada, uma vez que este ambiente possui uma enorme diversidade genotípica e fenotípica, heterogeneidade, e inacessibilidade. Porém, com o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, associadas ao conhecimento em bioinformática, tornou-se possível essa caracterização, revelando os grupos atuantes, muitos destes até então desconhecidos (FRANCO; CUNHA; ROSADO, 2006).

A utilização de técnicas moleculares permite, portanto, um conhecimento mais aprofundado dos grupos microbianos presentes, após a seleção natural imposta por condições extremas, como a presença de substâncias poluentes e de suas formas distintas de tratamento. Do ponto de vista técnico, estes métodos são viáveis porque são rápidos e sensíveis para identificar e monitorar a população microbiana presente e atuante no processo de biorremediação (CUNHA, 2004; WATANABE; HAMAMURA, 2003).

As análises metagenômicas possibilitam, a partir do isolamento do DNA proveniente de uma amostra ambiental, avaliar, tanto a presença de marcadores filogenéticos, quanto de fenótipos ou características específicas (HANDELSMAN, 2004), assim como na descoberta de novas rotas de degradação de hidrocarbonetos (SIERRA-GARCIA *et al.*, 2014).

Para a realização da metagenômica, a utilização do método tradicional de sequenciamento de DNA (SANGER; NICKLEN; COULSON, 1977) permite apenas amostras individuais de sequências, consequentemente, é inadequada para o processamento de amostras ambientais complexas, especialmente para estudos em grande escala. Estas amostras contêm, muitas vezes, as misturas de DNA a partir de centenas ou milhares de indivíduos. Embora o sequenciamento convencional tenha proporcionado o desenvolvimento de grandes bibliotecas de DNA, o número de indivíduos em uma amostra ambiental acaba aquém da realidade (HAJIBABAEI *et al.*, 2011). Com o objetivo de superar tal limitação, a utilização do sequenciamento de nova geração oferece um meio eficaz de resolver questões difíceis na ecologia, visando o estudo do DNA em amostras ambientais (SHOKRALLA *et al.*, 2012).

Com base neste contexto, a utilização desta técnica molecular proporciona uma melhor compreensão das alterações nas comunidades microbianas de um solo multi-contaminado que, além de inovadora, demonstra ser adequada diante das características do material estudado e das possibilidades de respostas geradas.

2 | FERRAMENTAS MOLECULARES NO MONITORAMENTO DO SOLO

Os micro-organismos do solo participam de processos importantes (por exemplo, da ciclagem de nitrogênio e carbono, interações simbióticas com as plantas etc.), assim como deletérios (emissões de óxido nitroso e metano; doenças de plantas), mas, ainda assim, importantes. Para entender melhor o solo e minimizar os impactos ambientais negativos há a necessidade da compreensão mais detalhada das comunidades microbianas responsáveis por essas atividades e como elas podem responder ao estresse ambiental (HIRSCH; MAUCLINE; CLARK, 2010). No entanto, todos os estudos dos micro-organismos do solo são difíceis por causa da heterogeneidade de sua composição, do grande número (10^9 células individuais) e diversidade ($> 10^6$ taxa distinta) de micro-organismos presentes em cada grama de solo (CURTIS; SLOAN, 2005; GANS; WOLINSKY; DUNBAR, 2001), e da falta de conhecimento sobre a maior parte desta microbiota. Apenas uma minoria das bactérias do solo, geralmente estimada em cerca de 1% do número total de células observadas por contagem direta, pode ser cultivada em meio de cultivo, em laboratório (SKINNER; JONES; MOLLISON, 1952). Em áreas com elevada disponibilidade de nutrientes, tais como a rizosfera, este número pode subir para mais de 10% (SØRENSEN *et al.*, 1997). Mesmo que a maior parte das bactérias fosse cultivável, não há qualquer garantia de que a atividade mensurada no laboratório seja representativa do que ocorre sob um conjunto de condições do solo (HIRSCH; MAUCLINE; CLARK, 2010).

Para evitar a necessidade de cultivo no laboratório, as bactérias e os fungos podem ser lisados diretamente no solo para extrair marcadores bioquímicos. Fosfolípidos, derivados de membranas celulares, caracterizadas por diferentes cadeias de grupos acila, provaram ser úteis como indicadores gerais das alterações na estrutura da comunidade bacteriana em solos submetidos à diferentes condições (ZELLES *et al.*, 1992). Eles são extraídos, principalmente, de células microbianas viáveis, degradando rapidamente após a morte celular. As membranas de bactérias e células eucarióticas contêm *phospholipid fatty acids* (PLFA), enquanto que as membranas celulares de *arqueas* contêm *phospholipid etherlipid* (PLEL), um recurso exclusivo para este grupo de procariontes (GATTINGER *et al.*, 2002). Similarmente, ergosterol, um componente das membranas das células dos fungos, pode fornecer estimativas da biomassa fúngica viável no solo, não sendo um componente da parede celular bacteriana (ZELLES; ALEF, 1995).

No entanto, nenhum destes métodos tem como alvo grupos específicos, com as funções-chave do solo; o material genético isolado a partir do solo, contudo, possui as informações de todas as propriedades dos organismos, sendo por vezes descrito como metagenoma solo (RONDON *et al.*, 2000).

Utilizando a técnica de qPCR, vários grupos e espécies de bactérias têm sido alvos de quantificação (ZHANG; FANG, 2006). Sistemas de detecção e quantificação de diversos grupos de micro-organismos, funções ecológicas e metabolismos específicos estão publicados na literatura (AN; MAINELIS; WHITE, 2006; FURUKAWA *et al.*, 2006; POWELL *et al.*, 2006; ZHANG; FANG, 2006).

Os RNAs ribossomais 16S e 18S, ou seus genes (DNAr), são importantes marcadores moleculares de procariotos e eucariotos, respectivamente. Os produtos de PCR, gerados a partir de iniciadores baseados em regiões conservadas dos genes que codificam para o rRNA 16S, resultam em uma mistura de fragmentos de DNA que representam todas as espécies do solo potencialmente acessíveis ao PCR. Esses produtos de PCR podem ser utilizados para construção de bibliotecas de clones (CAIG *et al.*, 2001) e em técnicas de *fingerprinting* (GARBEVA; VAN VEEN; VAN ELSAS, 2004).

A clonagem desses fragmentos de DNA “ambiental” em um hospedeiro cultivável levou ao surgimento de uma nova linha de pesquisa. A análise genômica de uma população de micro-organismos surgiu como peça-chave de um novo avanço na pesquisa em microbiologia. Assim, para estudo e preservação, o DNA microbiano poderia ser utilizado na busca de informações sobre a fisiologia e a genética de organismos não cultiváveis (CURTIS; SLOAN; SCANNELL, 2002; HANDELSMAN, 2004; PESSOA FILHO, 2010).

O primeiro relato de clonagem de DNA, diretamente extraído e purificado de amostras ambientais, foi feito em uma análise de comunidades microbianas marinhas, permitindo um levantamento da diversidade filogenética das populações de picoplâncton marinho (SCHMIDT; DELONG; PACE, 1991). Posteriormente, a construção de uma biblioteca metagenômica, a partir de uma mistura de organismos enriquecidos em gramíneas ressecadas em laboratório, permitiu a detecção de clones que expressavam atividade celulolítica (HEALY *et al.*, 1995).

2.1 | Metagenômica

O termo metagenômica foi descrito pela primeira vez por Jo Handelsman, da Universidade de Wisconsin (EUA), a partir da sugestão de uma série de procedimentos para acessar o metabolismo de micro-organismos desconhecidos no solo. Seu propósito era avançar a pesquisa em produtos naturais. Partindo do pressuposto de que a grande maioria dos micro-organismos do solo nunca foi isolada nem cultivada em laboratório, foi sugerido, então, que esse ambiente poderia constituir a maior fonte de recursos desconhecidos na química de produtos naturais (HANDELSMAN *et al.*, 1998).

As análises metagenômicas consistem no isolamento do DNA proveniente de uma amostra ambiental, fragmentação e inserção do DNA em um vetor adequado, transformação de um hospedeiro bacteriano, e *screening* das células recombinantes. Os clones podem ser avaliados quanto à presença de marcadores filogenéticos (conhecidos como âncoras), tais como o próprio gene rRNA 16S ou o gene *recA*, ou de outros genes conservados. Também podem ser testados quanto à expressão de fenótipos ou características específicas, tais como atividades enzimáticas ou a produção de antibióticos. Outra possibilidade é o sequenciamento aleatório de clones da biblioteca (HANDELSMAN, 2004). Na Figura 1, é apresentado um fluxograma clássico em projetos de metagenômica.



Figura 1. Fluxograma comparativo de projetos genoma tradicionais e projetos em metagenômica (PESSOA FILHO, 2010).

O método tradicional de sequenciamento de DNA (SANGER; NICKLEN; COULSON, 1977) permite apenas amostras individuais de seqüências, sendo, conseqüentemente, inadequado para o processamento de amostras ambientais complexas, especialmente para estudos em grande escala. Estas amostras contêm, muitas vezes, as misturas de DNA a partir de centenas ou milhares de indivíduos. Embora o sequenciamento convencional tenha proporcionado o desenvolvimento de grandes bibliotecas de DNA, o número de indivíduos em uma amostra ambiental acaba aquém da realidade (HAJIBABAEI *et al.*, 2011).

Recuperar sequências de DNA em uma amostra global ambiental requer a capacidade de leitura paralela de diversas moléculas de DNA, algo que as tecnologias de nova-geração de sequenciamento possibilitam e, cada vez mais, com os custos reduzidos (SHOKRALLA *et al.*, 2012).

Os sequenciadores de nova-geração (SNG) permitiram a construção de plataformas de sequência de DNA diretamente de amostras ambientais (SOGIN *et al.*, 2006). Estes dados foram usados em uma variedade de aplicações, incluindo a comparação de microbiotas de indivíduos saudáveis em relação a doentes (ANDERSSON *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2009); para inferir a saúde de um ecossistema por meio da análise de biodiversidade (HAJIBABAEI *et al.*, 2011); em estudo do DNA ancestral (BOESSENKOOL *et al.*, 2012; HAILE *et al.*, 2009; SØNSTEBØ *et al.*, 2010); e na análise da dieta a partir de fezes ou conteúdo intestinal (DEAGLE; KIRKWOOD; JARMAN, 2009). Métodos computacionais avançados tornaram possível inferir medidas de biodiversidade através do tempo e do espaço, anotando e agrupando sequências de DNA usando uma combinação de atributos e técnicas filogenéticas (HAJIBABAEI *et al.*, 2011).

A análise SNG fornece um meio eficaz de resolver questões difíceis na ecologia, visando o estudo do DNA em amostras ambientais. A revolução nas tecnologias SNG também se reflete em vários sistemas de sequenciamento concorrentes e seu rápido avanço (Figura 2)(SHOKRALLA *et al.*, 2012).

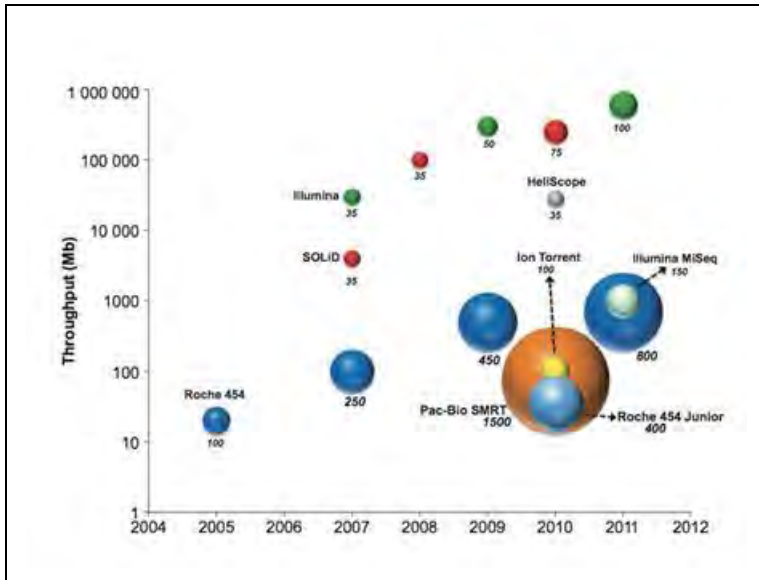


Figura 2. Desenvolvimento histórico das tecnologias de sequenciamento. O diâmetro de cada círculo representa o tamanho da sequência lida em pares de bases (pb). As cores correspondem ao tipo de tecnologia (SHOKRALLA *et al.*, 2012).

Em 2010, a Life Technologies apresentou o aparelho *Ion Personal Genome Machine* (IPGM) como uma tecnologia a qual não se usava detecção por emissão de luz. Este sistema baseia-se na detecção, em tempo, da concentração de íons de hidrogênio, lançados como um subproduto quando um nucleotídeo é incorporado a uma cadeia de DNA pela ação da *polimerase*. O *Ion Torrent*, como ficou conhecido, usa uma matriz de micro-esferas em micro-poços para executar esta reação bioquímica massivamente paralela. Cada poço contém várias cópias da mesma sequência de DNA obtida a partir da

amostra. Sob os poços há um sensor capaz de detectar a mudança no pH gerada a partir da liberação de íons hidrogênio devido a incorporação dos nucleotídeos, como mostrado na Figura 3 (MILLER *et al.*, 2011; ROTHBERG *et al.*, 2011).

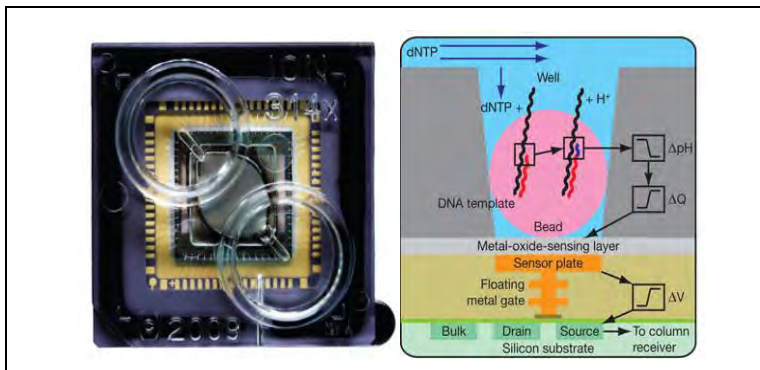


Figura 3. Arquitetura do chip (A) e do micro-poço (B) (Rothberg *et al.*, 2011).

O equipamento pode utilizar um dos três chips de íons disponíveis: 314, 316, ou 318, que pode gerar até 10 Mb, 100 Mb ou 1 Gb de dados, respectivamente, de acordo com a cobertura necessária. Em 2012, a Life Technologies lançou uma nova geração de sequenciadores de semi-condutores de íons, o sequenciador de bancada *Ion Proton*. Os Chips do *Ion Proton* são capazes de sequenciar o genoma ou exoma humano em apenas algumas horas (SHOKRALLA *et al.*, 2012).

O uso de ferramentas moleculares no estudo da diversidade microbiana em ambientes degradados constitui uma excelente oportunidade para se entender como se comporta a estrutura das comunidades e processos no solo, frente à distúrbios (JACKSON *et al.*, 2003).

2.1.1 | Análises Taxonômicas

As sequências dos genes que codificam o rRNA 16S fornecem informações sobre a comunidade bacteriana em diferentes amostras ambientais, permitindo uma avaliação da dinâmica populacional bacteriana em amostras de solos contaminados. Tendo isto, os trabalhos recentes utilizando esta ferramenta para estudos de solos contaminados por hidrocarbonetos e metais vêm apontando novidades ainda não vistas.

A presença de *Proteobacterias* em ambientes contaminados por petróleo é largamente conhecida na literatura, principalmente das γ -*proteobacteria* que possuem membros já conhecidos como degradadores de hidrocarbonetos como as *Pseudomonas*, por exemplo Oyetibo *et al.*, (2013).

Já o Filo *Actinobacteria* vem ganhando mais atenção nos últimos anos pela sua participação nos processos de degradação de hidrocarbonetos (ACOSTA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015; DE PASQUALE *et al.*, 2012; LIN *et al.*, 2012; VILA; GRIFOLL, 2009; ZEINALI; VOSSOUGH; ARDESTANI, 2007). O gênero *Rhodococcus*, por exemplo, é tido como um indivíduo importante, principalmente na degradação da fração de alcanos dos hidrocarbonetos do petróleo (ACOSTA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015; AUFFRET *et al.*, 2014; SONG *et al.*, 2011).

O trabalho de Silva e colaboradores (2013) mostra a diversidade microbiana em reservatórios de petróleo, sendo a ocorrência de aproximadamente 10% representada pelo Filo *Actinobacteria*. Este achado nos leva a considerar que a alteração das populações microbianas em ambientes contaminados pode ocorrer pela introdução de novos indivíduos presentes no próprio contaminante.

A Hipótese do Distúrbio Intermediário (IDH – *Intermediate Disturbance Hypotesis*), proposto por Connell e colaboradores (1978), supõe que distúrbios de graus moderados no ambiente podem afetar, negativamente, populações que eram predominantes, favorecendo uma maior abundância de populações antes oprimidas. Esta dinâmica muitas vezes podem ser vistas em solo sob contaminações de diversas naturezas.

Tayebi e Ahangar, (2014) estudaram a influência de metais pesados nas atividades microbianas do solo e mostraram que algumas das contaminações aumentaram a diversidade de micro-organismos no solo e usaram a IDH na discussão dos resultados como provável causa. Shi e colaboradores (2005), avaliaram a diversidade microbiana de um solo constantemente contaminado por Cr, Pb e hidrocarbonetos e observou maior susceptibilidade dos micro-organismos aos hidrocarbonetos do que aos metais.

2.1.2 | Análises Funcionais

As análises por metagenômica permitem a detecção de genes referentes às funções já descritas na literatura, muitas delas estão relacionadas à degradação de xenobiontes, respostas ao estresse e ao metabolismo de compostos aromáticos. Isto permite comparar o comportamento da presença de tais funções frente a diferentes condições de contaminação. Outra possibilidade é fazer a filiação taxonômica a tais funções, revelando os grupos de micro-organismos relacionados a estas.

As vias metabólicas bacterianas de degradação de hidrocarbonetos são, na etapa inicial, catalisadas por enzimas da classe das *oxigenases*, *monooxigenases* e *dioxigenases*. Essas enzimas são alvos principais de estudos para as análises funcionais dos processos de biodegradação de hidrocarbonetos (AUFFRET *et al.*, 2014; HAMME; SINGH; WARD, 2003; SILVA *et al.*, 2013).

Com relação aos efeitos tóxicos dos metais na biodegradação dos hidrocarbonetos, é possível verificar que ocorre uma mudança do perfil populacional provocada pela presença deste metal. Este fato tem, provavelmente, relação com a repressão de grupos sensíveis à toxidez do metal, que favorece grupos muitas vezes mais eficientes na degradação dos hidrocarbonetos, tornando o processo de remoção desses compostos mais eficaz (DERMONT *et al.*, 2008; MUNIZ, 2004; PÉREZ-DE-MORA; ENGEL; SCHLOTTER, 2011; SANTOS-ECHEANDÍA; PREGO; COBELO-GARCÍA, 2008; TANG *et al.*, 2010).

O conceito de redundância funcional, dado por Turnbaugh e colaboradores (2009), se aplica bem a dinâmica ecológica dada neste contexto. Turnbaugh mostra que os genes funcionais são mais conservados do que os genes relacionados aos filotipos. Assim, a diversidade dos micro-organismos no ambiente podem possuir os mesmos grupos funcionais, mesmo com graus de eficiência distintos.

Muitos dos genes envolvidos na degradação de hidrocarbonetos estão presentes em elementos genéticos móveis (MA; WANG; SHAO, 2006; WHYTE; BOURBONNIÈRE;

GREER, 1997). Isto pode também contribuir para a conservação desses genes funcionais no sistema.

Dos poucos trabalhos que avaliam a biodegradação de hidrocarbonetos através da metagenômica (ADETUTU *et al.*, 2013; BELL *et al.*, 2013; CHEEMA; LAVANIA; LAL, 2014), todos utilizaram níveis de contaminação na faixa de 0,5 a 1 % (m/m). Nestes casos foi possível observar níveis de alteração significativos com o aumento de genes relacionados à degradação de hidrocarbonetos.

Shen e colaboradores (2005) estudaram a interação de metais (Cd, Cu e Pb) e HPAs em relação às enzimas do solo (*urease* e *desidrogenase*) e mostraram que cada interação gera um comportamento enzimático distinto, sendo o Cd e o Cu, os metais que provocaram menores e maiores alterações, respectivamente, contrariando o que se poderia esperar pelo grau de toxidez destes metais.

Outro trabalho (ALMEIDA *et al.*, 2013) também mostra a interação de metais (Cd, Cu e Pb) na biodegradação de HTP. O metal considerado menos tóxico (Cu), dentre os estudados, foi o que gerou maior inibição na degradação de HTP em amostras de sedimento arenoso, assim como no trabalho citado anteriormente (SHEN *et al.*, 2005). Já os mesmos testes realizados com sedimento argiloso da mesma região não apresentaram nenhuma diferença na degradação do óleo. Tais resultados reforçam, ainda mais, as particularidades que envolvem as interações dos contaminantes ao ambiente em que é exposto.

No trabalho de Ke e colaboradores (2010) foi feito um estudo de biodegradação de diferentes tipos de hidrocarbonetos por uma alga na presença de diferentes metais (Cd, Cu, Ni, Zn).

Como resultado, eles observaram uma influência positiva na degradação de hidrocarbonetos de baixo peso molecular, e negativa com as moléculas de alto peso molecular. Portanto, os estudos com contaminação por petróleo devem levar em consideração toda essa complexidade química dos contaminantes.

A compreensão mais aprofundada das vias de degradação, assim como o melhoramento das técnicas de monitoramento das mesmas pode ser um caminho promissor para uma avaliação mais específica do processo de biodegradação de hidrocarbonetos, gerando respostas mais objetivas em termos de processo. Porém, devemos sempre levar em consideração a diversidade biológica e ambiental que pode nos colocar frente às peculiaridades que necessitem de ferramentas mais robustas para serem elucidadas.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de ferramentas moleculares na avaliação de solos multicontaminados por hidrocarbonetos e metais permite um conhecimento mais aprofundado dos grupos microbianos presentes, após a seleção natural imposta por condições extremas, como a presença destes contaminantes e de suas formas distintas de tratamento. Do ponto de vista técnico, estes métodos são viáveis porque são rápidos e sensíveis para identificar e monitorar a população microbiana presente e atuante no processo de biorremediação (CUNHA, 2004; EVANS *et al.*, 2004; TAKETANI *et al.*, 2015; WATANABE; HAMAMURA, 2003).

Apesar da utilização da metagenômica para o estudo da diversidade microbiana, as técnicas tradicionais, que envolvem enriquecimento e cultivo, ainda são fundamentais para a obtenção de um conhecimento mais detalhado a respeito de capacidades metabólicas e caracterização fenotípica. Neste sentido, faz-se necessário uma abordagem polifásica para chegar o mais próximo possível da caracterização do ambiente, além de permitir definir com mais precisão o melhor processo de biorremediação a ser implementado, desenvolvendo mecanismos que promovam a utilização máxima da comunidade microbiana total (CUNHA, 2004; YERGEAU *et al.*, 2012).

Não podemos atribuir, simplificarmente, que metais e hidrocarbonetos são substâncias tóxicas que afetam negativamente a vida no solo, pois os processos ecológicos no solo ocorrem sob influência de todos os tipos de substâncias respaldados por um arcabouço genético e metabólico dos micro-organismos presentes. Esses recursos estão diretamente

relacionados com a diversidade biológica e associados às variáveis ambientais e químicas, formando interações bastante particulares. Portanto, a comparação entre essas diferentes interações, para uma abordagem mais generalista, é um grande desafio e deve ser evitada. Estudos de ambientes contaminados devem sempre levar em consideração todas essas peculiaridades e serem abordados de forma integral, objetivando um resultado mais preciso

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA-GONZÁLEZ, A. et al. The effect of oil spills on the bacterial diversity and catabolic function in coastal sediments: a case study on the Prestige oil spill. **Environmental Science and Pollution Research**, 2015.
- ADETUTU, E. M. et al. A polyphasic approach for assessing the suitability of bioremediation for the treatment of hydrocarbon-impacted soil. **The Science of the total environment**, v. 450–451, p. 51–8, 15 abr. 2013.
- ALMEIDA, R. et al. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in estuarine sediments: metal influence. **Biodegradation**, v. 24, n. 1, p. 111–23, fev. 2013.
- AMOR, L.; KENNES, C.; VEIGA, M. C. Kinetics of inhibition in the biodegradation of monoaromatic hydrocarbons in presence of heavy metals. **Bioresource technology**, v. 78, n. 2, p. 181–5, jun. 2001.
- AN, H. R.; MAINELIS, G.; WHITE, L. Development and calibration of real-time PCR for quantification of airborne microorganisms in air samples. **Atmospheric Environment**, v. 40, n. 40, p. 7924–7939, dez. 2006.
- ANDERSSON, A. F. et al. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. **PLoS ONE**, v. 3, n. 7, 2008.
- AUFFRET, M. D. et al. Importance of Rhodococcus strains in a bacterial consortium degrading a mixture of hydrocarbons, gasoline, and diesel oil additives revealed by metatranscriptomic analysis. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 5, p. 2419–2430, 2014.
- BELL, T. H. et al. Predictable bacterial composition and hydrocarbon degradation in Arctic soils following diesel and nutrient disturbance. **The ISME journal**, v. 7, n. 6, p. 1200–1210, 2013.

- BOESSENKOOL, S. et al. Blocking human contaminant DNA during PCR allows amplification of rare mammal species from sedimentary ancient DNA. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1806–1815, 2012.
- CAIG, A. E. M. C. et al. Numerical analysis of grassland bacterial community structure under different land management regimens by using 16S ribosomal DNA sequence data and denaturing gradient gel electrophoresis banding patterns. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4554–4559, 2001.
- CHEEMA, S.; LAVANIA, M.; LAL, B. Impact of petroleum hydrocarbon contamination on the indigenous soil microbial community. **Annals of Microbiology**, 2014.
- CONNELL, J. H.; SERIES, N.; MAR, N. Diversity in Tropical Rain Forests and Coral Reefs. **Science**, v. 199, n. 4335, p. 1302–1310, 1978.
- CUNHA, C. D. **Avaliação de diferentes tecnologias de biorremediação de água subterrânea contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade bacteriana presente**. [s.l.] Federal University of Rio de Janeiro, 2004.
- CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T. Exploring Microbial Diversity--A Vast Below. **Science**, v. 309, n. 5739, p. 1331–1333, 25 ago. 2005.
- CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T.; SCANNELL, J. W. Estimating prokaryotic diversity and its limits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 16, p. 10494–9, 6 ago. 2002.
- DEAGLE, B. E.; KIRKWOOD, R.; JARMAN, S. N. Analysis of Australian fur seal diet by pyrosequencing prey DNA in faeces. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 9, p. 2022–2038, 2009.
- DE PASQUALE, C. et al. Degradation of long-chain n-alkanes in soil microcosms by two actinobacteria. **Journal of environmental science and health**, v. 47, n. 3, p. 374–81, 2012.

- DERMONT, G. et al. Metal-Contaminated Soils: Remediation Practices and Treatment Technologies. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, v. 12, n. 3, p. 188, 2008.
- EVANS, F. F. et al. Influence of petroleum contamination and biostimulation treatment on the diversity of *Pseudomonas* spp. in soil microcosms as evaluated by 16S rRNA based-PCR and DGGE. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 93–98, fev. 2004.
- FRANCO, N. O.; CUNHA, C. D.; ROSADO, A. S. Métodos moleculares para análise de comunidades microbianas em ambientes aquáticos: II. DGGE. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 35, n. 3, p. 67–71, 2006.
- FURUKAWA, K. et al. Highly sensitive real-time PCR assay for quantification of toxic cyanobacteria based on microcystin synthetase A gene. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 102, n. 2, p. 90–6, ago. 2006.
- GALVEZ-CLOUTIER, R.; DUBE, J. S. Impact of residual NAPL on water flow and heavy metal transfer in a multimodal grain size soil under saturation conditions: Implications for contaminant mobility. **ASTM Special Technical Publication**, p. 126–137, 2002.
- GANS, J.; WOLINSKY, M.; DUNBAR, J. Computational Improvements Reveal Great Bacterial Diversity and High Metal Toxicity in Soil. **Science**, v. 309, n. August, p. 1387–1390, 2001.
- GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. Microbial diversity in soil: selection microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. **Annual review of phytopathology**, v. 42, n. 29, p. 243–70, jan. 2004.
- GATTINGER, A. et al. Microbial community structure varies in different soil zones of a potato field. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 165, n. 4, p. 421–428, 2002.

- GUTNICK, D. L.; BACH, H. Engineering bacterial biopolymers for the biosorption of heavy metals; new products and novel formulations. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 54, n. 4, p. 451–60, out. 2000.
- HAILE, J. et al. Ancient DNA reveals late survival of mammoth and horse in interior Alaska. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 52, p. 22352–7, 29 dez. 2009.
- HAJIBABAEI, M. et al. Environmental barcoding: A next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, 2011.
- HAMME, J. D. VAN; SINGH, A.; WARD, O. P. Recent Advances in Petroleum Microbiology. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 67, n. 4, p. 503–549, 2003.
- HANDELSMAN, J. et al. Molecular biological access to the chemistry of Unknown soil microbes: a new frontier for natural products. **Chemistry & Biology**, v. 5, n. 10, p. 245–249, 1998.
- HANDELSMAN, J. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 68, n. 4, p. 669–685, 2004.
- HEALY, F. G. et al. Direct isolation of functional genes encoding cellulases from the microbial consortia in a thermophilic, anaerobic digester maintained on lignocellulose. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 4, p. 667–674, 1995.
- HIRSCH, P. R.; MAUCLINE, T. H.; CLARK, I. M. Culture-independent molecular techniques for soil microbial ecology. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 6, p. 878–887, 2010.
- JACKSON, L. E. et al. Responses of soil microbial processes and community structure to tillage events and implications for soil quality. **Geoderma**, v. 114, n. 3–4, p. 305–317, jun. 2003.

- KE, L. et al. Effects of metals on biosorption and biodegradation of mixed polycyclic aromatic hydrocarbons by a freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. **Bioresource technology**, v. 101, n. 18, p. 6961–72, set. 2010.
- KNOX, E. G.; GILMAN, E. A. Hazard proximities of childhood cancers in Great Britain from 1953-80. **Journal of epidemiology and community health**, v. 51, n. 2, p. 151–9, abr. 1997.
- KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in the biosorption of heavy metals. v. 16, n. July, p. 291–300, 1998.
- LEDIN, M.; PEDERSEN, K. The environmental impact of mine wastes - Roles of microorganisms and their significance in treatment of mine wastes. v. 41, p. 67–108, 1996.
- LIN, C. L. et al. Characterization of *Gordonia* sp. strain CC-NAPH129-6 capable of naphthalene degradation. **Microbiological Research**, v. 167, n. 7, p. 395–404, 2012.
- MA, Y.; WANG, L.; SHAO, Z. *Pseudomonas*, the dominant polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from Antarctic soils and the role of large plasmids in horizontal gene transfer. **Environmental Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 455–465, 2006.
- MILLER, W. et al. Genetic diversity and population structure of the endangered marsupial *Sarcophilus harrisii* (Tasmanian devil). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 30, p. 12348–53, 26 jul. 2011.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. 2002. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Editora: UFLA. Lavras.
- MUNIZ, P. Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo Harbour (Uruguay). **Environment International**, v. 29, n. 8, p. 1019–1028, fev. 2004.

- NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Levels of metals, PCBs, PCNs and PAHs in soils of a highly industrialized chemical/petrochemical area: temporal trend. **Chemosphere**, v. 66, n. 2, p. 267–76, jan. 2007.
- OYETIBO, G. O. et al. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the presence of nickel and cobalt. **Journal of basic microbiology**, p. 1–11, 1 mar. 2013.
- PÉREZ-DE-MORA, A.; ENGEL, M.; SCHLOTTER, M. Abundance and diversity of n-alkane-degrading bacteria in a forest soil co-contaminated with hydrocarbons and metals: a molecular study on alkB homologous genes. **Microbial ecology**, v. 62, n. 4, p. 959–72, nov. 2011.
- PESSOA FILHO, M. Metagenômica e sua Aplicação no Estudo de Diversidade e Função de Microrganismos de Solos do Cerrado. **Documentos, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2010.
- POWELL, S. M. et al. Using real-time PCR to assess changes in the hydrocarbon-degrading microbial community in Antarctic soil during bioremediation. **Microbial ecology**, v. 52, n. 3, p. 523–32, out. 2006.
- RONDON, M. R. et al. Cloning the Soil Metagenome: a Strategy for Accessing the Genetic and Functional Diversity of Uncultured Microorganisms Cloning the Soil Metagenome: a Strategy for Accessing the Genetic and Functional Diversity of Uncultured Microorganisms. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2541–2547, 2000.
- ROTHBERG, J. M. et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. **Nature**, v. 475, n. 7356, p. 348–52, 21 jul. 2011.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 74, n. 12, p. 5463–7, 1977.

- SANTOS-ECHEANDÍA, J.; PREGO, R.; COBELO-GARCÍA, A. Influence of the heavy fuel spill from the Prestige tanker wreckage in the overlying seawater column levels of copper, nickel and vanadium (NE Atlantic ocean). **Journal of Marine Systems**, v. 72, n. 1–4, p. 350–357, jul. 2008.
- SCHMIDT, T. M.; DELONG, E. F.; PACE, N. R. Analysis of a Marine Picoplankton Community by 16S rRNA Gene Cloning and Sequencing. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 14, p. 4371–4378, 1991.
- SHEN, G. et al. Interaction of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals on soil enzyme. **Chemosphere**, v. 61, n. 8, p. 1175–82, dez. 2005.
- SHI, W. et al. Microbial catabolic diversity in soils contaminated with hydrocarbons and heavy metals. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 7, p. 1974–1979, 2005.
- SHOKRALLA, S. et al. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. **Molecular ecology**, v. 21, n. 8, p. 1794–805, abr. 2012.
- SIERRA-GARCÍA, I. N. et al. New hydrocarbon degradation pathways in the microbial metagenome from Brazilian petroleum reservoirs. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, 2014.
- SILVA, T. R. et al. Diversity analyses of microbial communities in petroleum samples from Brazilian oil fields. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 81, p. 57–70, jul. 2013.
- SKINNER, F. A.; JONES, P. C. T.; MOLLISON, J. E. A comparison of a direct-and a plate-counting technique for the quantitative estimation of soil micro-organisms. **Microbiology**, v. 6, n. 3–4, p. 261–271, 1952.
- SOGIN, M. L. et al. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere”. **PNAS**. V.103, n. 32, p. 12115-12120, 2006.

- SONG, X. et al. Isolation, characterization of *Rhodococcus* sp. P14 capable of degrading high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons and aliphatic hydrocarbons. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 10, p. 2122–2128, 2011.
- SØNSTEBØ, J. H. et al. Using next-generation sequencing for molecular reconstruction of past Arctic vegetation and climate. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 6, p. 1009–1018, 2010.
- SØRENSEN, J. et al. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. **Modern soil microbiology**, p. 21–45, 1997.
- TAKETANI, N. F. et al. The influence of nickel on the bioremediation of multi-component contaminated tropical soil: microcosm and batch bioreactor studies. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2015.
- TANG, X. et al. Heavy metal and persistent organic compound contamination in soil from Wenling: an emerging e-waste recycling city in Taizhou area, China. **Journal of hazardous materials**, v. 173, n. 1–3, p. 653–60, 15 jan. 2010.
- TAYEBI, B.; AHANGAR, A. G. The influence of heavy metals on the development and activity of soil microorganisms. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 4, p. 74-85, 2014.
- TURNBAUGH, P. J. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. **Nature**, v. 457, n. 7228, p. 480–484, 2009.
- USEPA 2004. "Cleaning up the nation's waste sites: Markets and technology trends, 4th Ed." *EPA 542-R-04-015*, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.
- VILA, J.; GRIFOLL, M. Actions of *Mycobacterium* sp. strain AP1 on the saturated- and aromatic-hydrocarbon fractions of fuel oil in a marine medium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 19, p. 6232–6239, 2009.
- VOLESKY, B. **Biosorption of heavy metals**. [s.l.] CRC press, 1990.

- VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Biosorption of heavy metals. **Biotechnology progress**, v. 11, n. 3, p. 235–50, 1995.
- WATANABE, K.; HAMAMURA, N. Molecular and physiological approaches to understanding the ecology of pollutant degradation. **Current opinion in biotechnology**, v. 14, n. 3, p. 289–295, 2003.
- WHYTE, L. G.; BOURBONNIÈRE, L.; GREER, C. W. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by psychrotrophic *Pseudomonas* strains possessing both alkane (alk) and naphthalene (nah) catabolic pathways? **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 9, p. 3719–3723, 1997.
- WINGENDER, J.; NEU, T. R.; FLEMMING, H.-C. **Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure and function**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2012.
- YERGEAU, E. et al. Metagenomic analysis of the bioremediation of diesel-contaminated Canadian high arctic soils. **PLoS one**, v. 7, n. 1, p. e30058, jan. 2012.
- ZEINALI, M.; VOSSOUGH, M.; ARDESTANI, S. K. Characterization of a moderate thermophilic *Nocardia* species able to grow on polycyclic aromatic hydrocarbons. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 622–628, 2007.
- ZELLES, L. et al. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 317–323, 1992.
- ZHANG, H. et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 106, n. 12, p. 2365–2370, 2009.
- ZHANG, T.; FANG, H. H. P. Applications of real-time polymerase chain reaction for quantification of microorganisms in environmental samples. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 70, n. 3, p. 281–289, 2006.

SÉRIES CETEM

As Séries Monográficas do CETEM são o principal material de divulgação da produção científica realizada no Centro. Até o final do ano de 2015, já foram publicados, eletronicamente e/ou impressos em papel, mais de 300 títulos, distribuídos entre as seis séries atualmente em circulação: Rochas e Minerais Industriais (SRMI), Tecnologia Mineral (STM), Tecnologia Ambiental (STA), Estudos e Documentos (SED), Gestão e Planejamento Ambiental (SGPA) e Inovação e Qualidade (SIQ). A Série Iniciação Científica consiste numa publicação eletrônica anual.

A lista das publicações poderá ser consultada em nossa homepage. As obras estão disponíveis em texto completo para download. Visite-nos em <http://www.cetem.gov.br/series>.

Últimos números da Série Tecnologia Ambiental

STA- 90 – **Biossorção de Elementos de Terras-Raras**. Ellen Cristine Giese, Danielly de Paiva Magalhães e Silvia Gonçalves Egler, 2016.

STA-89 – **Estudo da Remoção do Íon Cobre por meio de Biossorção usando Biomassa de Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*)**. Jéssica Mesquita do Nascimento, Selma Gomes Ferreira Leite e Andréa Camardella de Lima Rizzo, 2016.

STA-88 – **Separação Seletiva de Zinco em Efluentes Industriais Empregando Extração por Solvente**. Flávio de Almeida Lemos, Ivan Ondino de Carvalho Masson, Roosevelt de Almeida Fernandes, 2015.

STA-87 – **Drenagem Ácida Aspectos Ambientais: Uma revisão**. Vicente Paulo de Souza, 2015.

INFORMAÇÕES GERAIS

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral
Avenida Pedro Calmon, 900 – Cidade Universitária
21941-908 – Rio de Janeiro – RJ

Geral: (21) 3865-7222

Biblioteca: (21) 3865-7218 ou 3865-7233

Telefax: (21) 2260-2837

E-mail: biblioteca@cetem.gov.br

Homepage: <http://www.cetem.gov.br>

NOVAS PUBLICAÇÕES

Se você se interessar por um número maior de exemplares ou outro título de uma das nossas publicações, entre em contato com a nossa biblioteca no endereço acima.

Solicita-se permuta.

We ask for interchange.



Missão Institucional

Desenvolver tecnologias inovadoras e sustentáveis, e mobilizar competências visando superar desafios nacionais do setor mineral.

O CETEM

O Centro de Tecnologia Mineral - CETEM é um instituto de pesquisas, vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações - MCTIC, dedicado ao desenvolvimento, à adaptação e à difusão de tecnologias nas áreas minerometalúrgica, de materiais e de meio ambiente.

Criado em 1978, o Centro está localizado no campus da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, na Cidade Universitária, no Rio de Janeiro e ocupa 20.000m² de área construída, que inclui 25 laboratórios, 4 plantas-piloto, biblioteca especializada e outras facilidades.

Durante seus 38 anos de atividade, o CETEM desenvolveu mais de 800 projetos tecnológicos e prestou centenas de serviços para empresas atuantes nos setores minerometalúrgico, químico e de materiais.