

Danusia F. Lima¹, Olívia M. C. de Oliveira², Manuel J. M. Cruz³, Thiara P. S. Gomes⁴, Natalí de A. dos S.⁵, Roberto G. dos S.⁶

Copyright 2012, Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis - IBP

Este Trabalho Técnico foi preparado para apresentação na **Rio Oil & Gas Expo and Conference 2012**, realizado no período de 17 a 20 de setembro de 2012, no Rio de Janeiro. Este Trabalho Técnico foi selecionado para apresentação pelo Comitê Técnico do evento, seguindo as informações contidas no trabalho completo submetido pelo(s) autor(es). Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões do Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis, Sócios e Representantes. É de conhecimento e aprovação do(s) autor(es) que este Trabalho Técnico seja publicado nos Anais da *Rio Oil & Gas Expo and Conference 2012*.

Resumo

A presença de compostos de petróleo em solos e sedimentos tem sido uma grande preocupação ao longo dos últimos anos. A biorremediação é uma tecnologia muito eficaz e promissora na recuperação de áreas contaminadas por petróleo e seus derivados. Esta técnica é basicamente um processo natural, onde micro-organismos degradam os contaminantes ambientais em formas menos tóxicas. Os hidrocarbonetos encontrados no meio ambiente são degradados principalmente por bactérias e fungos e a extensão da biodegradação de hidrocarbonetos por micro-organismos dependem das condições do ecossistema e do meio ambiente local. Um dos principais fungos degradantes, encontrados na literatura, são as espécies de *Penicillium* sp. e *Aspergillus niger*. Mas muitas vezes, cada espécie é responsável em degradar um único componente do óleo, sendo necessário o uso de consórcios puros (somente fungos) ou consórcios mistos (vários micro-organismos) para melhorar a eficiência da biorremediação. Vários trabalhos foram e estão sendo desenvolvidos no Brasil e no exterior com a finalidade de identificar os fungos para degradar hidrocarbonetos. O principal objetivo desta pesquisa foi coletar informações sobre o uso de fungos em biorremediação de substratos contaminados com óleo.

Abstract

The presence of petroleum compounds in soils and sediments has been a major concern over the recent years. Bioremediation is a very effective and promising technology in the recovery of areas contaminated by petroleum and its derivatives. This technique is basically a natural process where microorganisms degrade the environmental contaminants into less toxic forms. The hydrocarbons found in the environment are degraded primarily by bacteria and fungi and extent of biodegradation of hydrocarbons by microorganisms depend on the conditions of the ecosystem and the local environment. One of the main degrading fungi found in the literature are the species of *Penicillium* sp. and *Aspergillus niger*. But many times each species is responsible for degrading a single component of the oil being necessary to use pure consortium (fungi only) or mixed consortia (various microorganisms) to improve the efficiency of bioremediation. Several works have been and are being developed in Brazil and abroad for the purpose of identifying fungi to degrade hydrocarbons. The main objective of this research was to gather information about the use of fungi in bioremediation of oil-contaminated substrates.

¹Doutoranda, Estudante, PPGG/NEA/IGEO/UFBA

²Doutora, Professor/Pesquisador, DGGG e NEA/IGEO/UFBA

³Doutor, Professor/Pesquisador, NEA/DGQ/IGEO/UFBA

⁴Graduanda, Estudante, IGEO/UFBA

⁵Graduanda, Estudante, IGEO/UFBA

⁵Graduando, Estudante, IGEO/UFBA

1. Introdução

O avanço da industrialização e do desenvolvimento econômico vem exigindo grande estruturação de toda a cadeia produtiva do petróleo. Este crescimento traz consigo alguns riscos, sendo os acidentes ambientais um dos mais preocupantes (MARIANO, 2006). Derramamentos de óleo, especialmente acidentes em grande escala, têm trazido ameaças e tem causado grandes danos ao ambiente marinho costeiro, dentre estes a destruição do “habitat” de animais e plantas aquáticas, a devastação de toda a fauna e flora circundante, além de trazer sérios riscos de saúde para os habitantes locais (VENOSA; ZHU, 2006; DIAS, 2007).

Estes acidentes levaram ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas (métodos físicos, químicos e biológicos) para lidar com a poluição por hidrocarbonetos, tanto no mar como em linhas costeiras (SOUZA, 2003).

Os tratamentos biológicos, denominados de biorremediação, tem se destacado ao longo dos últimos anos como uma solução efetiva para a eliminação de diversos poluentes, entre eles os produtos do petróleo, óleo bruto e graxas. Estes métodos são favorecidos por serem ecologicamente corretos, mais limpos, com custos baixos e de mais fácil aplicação em grande escala, além de não alterar o equilíbrio dos ecossistemas (YEUNG et al., 1997).

A biorremediação consiste basicamente em um processo natural onde os micro-organismos degradam os contaminantes ambientais em formas menos tóxicas (VIDALI, 2001). O sucesso da biorremediação, em derramamentos de petróleo, depende da capacidade de estabelecer e manter as condições (através do monitoramento geoquímico), favorecendo a maior biodegradação do óleo no ambiente contaminado (VENOSA; ZHU, 2005).

Esta tecnologia parte da premissa de que grande parte dos componentes do petróleo são biodegradáveis na natureza, onde os micro-organismos utilizam como principal fonte de carbono os hidrocarbonetos em seus processos metabólicos, podendo ocorrer em condições anaeróbicas e aeróbicas (ATLAS 1981, 1995; MARIANO, 2006; ROSA, 2001). Esse processo pode ser acelerado pela utilização de bioestimulação e/ou de bioaumentação. Na bioestimulação, nutrientes são adicionados e as condições ambientais otimizadas visando ao desenvolvimento de populações nativas de micro-organismos. Pela bioaumentação, são adicionados micro-organismos capazes de degradar rapidamente os contaminantes específicos (FENIMAN et al., 2009).

A habilidade em degradar hidrocarbonetos não é restrita a apenas gêneros específicos de micro-organismos, pois, vários grupos de bactérias, fungos, algas e algumas cianobactérias têm mostrado possuir essa capacidade (KATAOKA, 2001 apud MARIANO, 2006).

Riser-Roberts (1992) cita como as principais espécies que assimilam hidrocarbonetos, os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, contudo esta característica é uma propriedade individual da espécie e não necessariamente uma característica particular do gênero.

Esse trabalho tem como principal objetivo agregar informações sobre a utilização de fungos na biorremediação de substratos contaminados por petróleo e compreender como a identificação e o isolamento de micro-organismos (fungos) possibilitaria o desenvolvimento de um consórcio capaz de melhorar os resultados da biorremediação.

2. Estado da arte

2.1. Fungos x Biorremediação

Nas últimas décadas estudos vêm mostrando que os fungos são capazes de degradar vários poluentes orgânicos, apesar da maioria dos trabalhos desenvolvidos em processos de biorremediação serem com bactérias, e existir uma pouca valorização da utilização dos fungos. (SINGLETON, 2001). No entanto, o solo por este ser um ambiente heterogêneo, é possível que os ensaios com inóculos fúngicos apresentem diferentes graus de sucesso (SINGLETON, 2001). Acelerar o crescimento ou aumentar a quantidade de fungos, podem exercer efeitos benéficos, diminuindo a quantidade de poluentes tóxicos disponíveis, desde que seja dadas as condições adequadas, especialmente para os poluentes difíceis de serem degradados, tais como HPAs (SINGH, 2006; SILVA; ESPOSITO, 2004; SUTHERLAND, 1992).

2.2 Fungos degradadores de hidrocarbonetos

Fungos de podridão-branca são os mais conhecidos capazes de transformar compostos orgânicos (SUTHERLAND, 1992; LAUNEN et al., 1995; SACK et al., 1997). No entanto outros organismos como *Cunninghamella* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus niger* vem mostrando sua capacidade de degradar, principalmente, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (SUTHERLAND, 1992; LAUNEN et al., 1995; SACK et al., 1997).

Um dos primeiros estudos desenvolvidos por Cerniglia e Perry (1973), apresentam o isolamento dos fungos *Arpergillus versicolor*, *Cephalosporium acremonium*, *Penicillium* sp. e *Cunninghamella elegans* como degradadores de hidrocarbonetos. Davies e Westlake (1978) em seus estudos identificaram vários outros fungos que apresentam capacidade de utilizar o petróleo e seus derivados como fonte de energia, a *Beauveria bassiana*, *Chrysosporium* sp., *Mortierella* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* e *Trichoderma viride* e *Verticillium* spp.. Nas pesquisas realizadas por

CHANEAU (1999) e seus colaboradores, dentre os principais e mais eficientes em degradar compostos saturados e aromáticos se encontram as espécies *Beauveria alba* e *Penicillium simplicissimum*.

Vários outros estudos foram realizados utilizando fungos do gênero *Penicillium* na degradação de HPAs. Além destes o *Aspergillus niger* e algumas leveduras também confirmaram sua eficiência na degradação destes compostos mais recalcitrantes (SILVA; ESPOSITO, 2004).

Segundo Cerniglia e Perry (1973), o tratamento da poluição causada por petróleo em ambientes marinhos pode ocorrer mais eficientemente se organismos degradadores de hidrocarbonetos, incluindo os fungos, forem adicionados ao ambiente em grande quantidade, juntamente com a adição de nitrogênio e fosfato.

Singh (2006) relata que fungos filamentosos não exibem degradação preferencial para um comprimento de cadeia particular. Já experimentos realizados por Silva e Espósito (2004) sobre a eficiência da degradação por fungos filamentosos das diferentes frações de hidrocarbonetos saturados e aromáticos mostraram que esses fungos degradam com mais facilidade os compostos saturados, degradando com menor eficiência a fração aromática.

Araújo e Lemos (2002), em seus estudos isolaram oitenta linhagens a partir de um solo contaminado com 5% p/p de petróleo, onde 75% destas linhagens apresentaram capacidade para degradar hidrocarbonetos de petróleo. Os autores agruparam-os em quatro gêneros fúngicos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* e *Fusarium*) subdivididos nas seguintes espécies: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium corylophilum*, *Paecilomyces variotti*, *Paecilomyces niveus* e *Fusarium* sp.

Mollea et al. (2005) na otimização da biodegradação de HPAs utilizaram linhagens fúngicas puras. Os resultados mostraram que *T. harzianum* não foi capaz de biodegradar naftaleno, enquanto *P. Chrysosporium*, nas mesmas condições de teste, biodegradou os HPAs até aproximadamente 600 mg.Kg⁻¹ de solo.

Dessa forma, o uso de micro-organismos, especialmente fungos filamentosos, em processos de biorremediação é altamente conveniente, principalmente em função da natureza pouco poluente dos processos biológicos (BRITO et al., 2004).

2.3 Consórcios fúngicos

O petróleo é considerado uma mistura complexa onde dentre os principais componentes encontra-se os alcanos, aromáticos e naftênicos, que podem ser degradados por micro-organismos (KIRCHMANN & EWNETU, 1998). No entanto, o que se observa é que uma única espécie isoladamente não consegue degradar todos os componentes do petróleo e que sob condições favoráveis um micro-organismo consegue degradar um tipo ou uns poucos componentes ao mesmo tempo (KORDA et al., 1997; DIAS, 2007).

Para que ocorra a biodegradação total faz-se necessário uma assembléia ou *pool* de micro-organismos capazes de degradar todos os compostos contidos no mesmo e com isso várias pesquisas internacionais têm proposto a utilização de consórcios puros e mistos para fins de biorremediação (RAMBELOARISOA et al., 1984; CHHATRE et al., 1996; TANODEBRAH et al., 1999; VENOSA et al., 1999; COOKSON, 1995).

2.4 Metabolismo dos fungos

A capacidade dos fungos de adaptar rapidamente o seu metabolismo a diferentes fontes de carbono e energia é um fator essencial para sua sobrevivência. Essa flexibilidade se deve a produção de uma grande quantidade de enzimas intra e extracelulares, capazes de degradar estes compostos inclusive polímeros complexos (SILVA; ESPOSITO, 2004). A captação de hidrocarbonetos envolve a penetração do substrato insolúvel na célula através de uma variedade de mecanismos. Um dos mecanismos mais aceitável é através do processo de transporte (SINGLETON, 2001). Após a assimilação dos hidrocarbonetos, os fungos iniciam a degradação por meio de uma reação de hidroxilação (DEL'ARCO, 1999) (Figura 1). Essa degradação é realizada pelo sistema intracelular, citocromo P-450 monoxigenase, resultando em produtos solúveis em água e menos tóxicos (SUTHERLAND, 1992; BENNETT; FAISON, 1997).

Os fungos participam nas reações de transformação assimilando hidrocarbonetos como única fonte de carbono e energia, resultando na formação de dióxido de carbono. Essa transformação pode ser também através da reação de oxirredução. A oxidação de hidrocarbonetos aromáticos, por exemplo, é iniciada com uma oxidação de óxidos de areno pelo citocromo P450-dependente de monoxigenases onde pode ser visto na Figura 1 (SINGH, 2006).

Entre os metabólitos formados inclui fenóis, quinonas e conjugados (SUTHERLAND et al., 1995). Fungos ligninolíticos degradam HPAs catalisados por enzimas ligninolíticas extracelulares, que leva principalmente para formação de quinonas. Alguns fungos ligninolíticos ainda pode metabolizar HPAs quinonas pela clivagem dos anéis aromáticos, com subsequente quebra e formação do dióxido de carbono (HAMMEL, 1995) (Figura 1).

Ao contrário das bactérias, fungos não assimilam HPAs como a única fonte de carbono e energia, mas exigem cometa-bolismo para desintoxicá-los eles (WUNDER et al., 1994; POTHULURI et al., 1995; CASILLAS et al., 1996). Em certos casos, os fungos podem iniciar quebrando ou modificando hidrocarbonetos complexos apesar de não ocorrer seu crescimento, pois algum grau de conversão parcial pode estar ocorrendo na presença de um substrato alternativo atuando como uma fonte de carbono e energia (SINGLETON, 2001).

2.5 Métodos analíticos

A exposição prévia de um ecossistema a contaminação tem sido correlacionada com micro-organismos degradadores de hidrocarbonetos. Ao contrário dos métodos bacterianos, pouco se sabe a respeito dos métodos para avaliação dos fungos na biorremediação (SINGLETON, 2001). Os métodos mais utilizados pela literatura estão descritos a seguir:

a) Contagem, Isolamento, Identificação: estas análises podem proporcionar um bom entendimento das condições biológicas do solo e indicam a viabilidade da população de fungos indígenas capazes de suportar biorremediação.

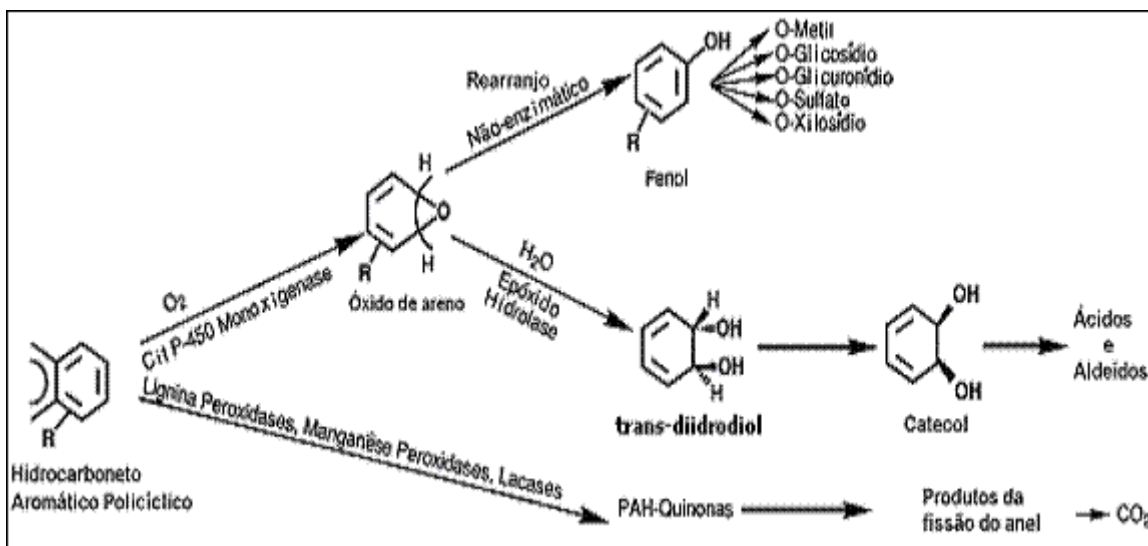


Figura 1. Metabolismo de compostos aromáticos. Fonte: adaptado de Cerniglia (1997) e Wilson e Jones (1993).

Vários são os métodos para contagem, isolamento e identificação de fungos dentre eles os mais utilizados são:

- i) contagem padrão em placa que pode ser através Técnica em Profundidade (Pour Plate) ou a Técnica em superfície (Spread Plate);
- ii) através do Número Mais Provável – NMP, técnica de diluição idealizada por McCrady (1915), onde se faz uma estimativa da densidade média dos micro-organismos na amostra;
- iii) utilizando a técnica por filtração em Membrana que baseia-se na filtração de volumes adequados da amostra diluída através de membrana filtrante com porosidade de 0,45 μm . As bactérias e fungos a serem detectados, apresentando dimensões maiores, ficarão retidos na superfície da membrana, a qual é então transferida para placa de Petri contendo meio seletivo e diferencial (SINGH, 2006).

Os métodos utilizados na identificação de fungos de uma maneira geral têm sido baseados predominantemente nas observações das características morfológicas (CERNIGLIA; PERRY, 1973; SUTHERLAND, 1992; LAUNEN et al., 1995; SACK et al., 1997; ARAÚJO & LEMOS, 2002).

b) Testes respirométricos: envolve a medição da produção de CO_2 total, fonte útil de conhecimento sobre o potencial de degradação de hidrocarbonetos em solos contaminados. Este teste também é usado para confirmar ativa degradação de hidrocarbonetos durante biorremediação em grande escala. Testes respirométricos simples requerem a utilização de equipamentos automatizados de alto custo empregados para o monitoramento do consumo de O_2 e/ou evolução das taxas de CO_2 (SINGH, 2006; BALBA et al., 1998).

c) Testes com Microcosmo do solo: Incluem tratamentos estéreis como controle apropriado para separar os efeitos abióticos da perda de hidrocarbonetos da biodegradação real. São empregadas para avaliar o potencial de biodegradação e desenvolvimento de modelos para prever o destino dos hidrocarbonetos. Uma das vantagens da utilização desse método é que a taxa de degradação e produtos metabólicos gerados podem ser monitorados. Esses testes com microcosmo do solo podem ser conduzidos em frascos simples com solo contaminado e em sistemas altamente sofisticados. Bons resultados são esperados com a utilização de microcosmos (SINGH, 2006).

2.6 Uso dos fungos em processos de biorremediação

A biorremediação de substratos impactados por petróleo e seus derivados utilizando fungos não é um estudo novo. Desde a década de 1973 estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando fungos como biodegradadores em processos de biorremediação. Abaixo será descrito um breve resumo sobre os principais trabalhos desenvolvidos no mundo e no Brasil, utilizando fungos.

No mundo

As pesquisas sobre a capacidade dos fungos em degradar hidrocarbonetos, vêm sendo desenvolvidas por diversos países.

No **México** fungos nativos, identificado como *Rhizopus* sp., *P. Funiculosum* e *A. Sydowii* foram isolados e os resultados mostraram que o uso destes micro-organismos aumentaram na remoção de HTP em 16%, em relação ao tratamento realizado com bioestimulação (Figura 2). Os autores concluíram que os fungos *Rhizopus* sp., *A.* e *P. sydowii* representam uma alternativa a ser usado na biorremediação (LOPEZ et al., 2008).

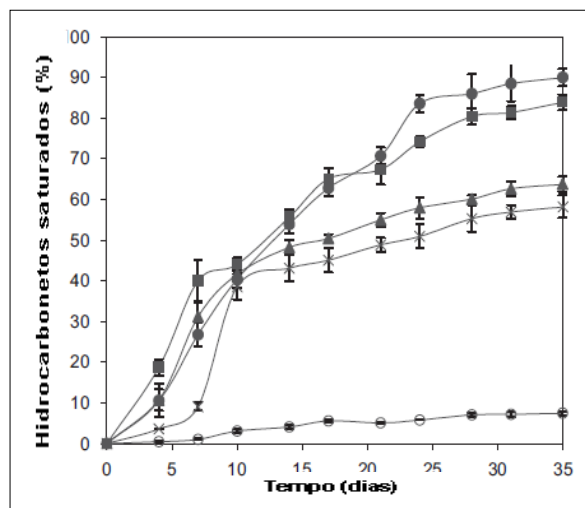


Figura 2. Remoção de hidrocarbonetos alifáticos na bioaumentação. *Rhizopus* sp.(●); *P. Funiculosum* (■); *A. Sydowii* (▲); bioestimulação (x) e controle(○). Fonte: Lopez et al. (2008).

Na **Califórnia do Norte** foram utilizadas cepas de *Aspergillus versicolor*, *Cephalosporium Acremonium*, *Cunninghamella elegans*, e *Penicillium* sp. para degradar dois tipos de petróleo (CERNIGLIA; PERRY, 1973). Os resultados deste estudo sugerem que os fungos podem efetivamente assimilar petróleo bruto e que o petróleo bruto parafínico é mais facilmente degradado do que o petróleo bruto asfáltico. Cerca de 96% (peso base) dos n-parafinas foram utilizados por cepas de *C. elegans* durante a 5 dias de experimento. Os resultados sugerem que os fungos isolados de *C. elegans* e os *Penicillium* sp. foram mais eficazes na degradação de petróleo bruto.

Na **França** vinte e um fungos filamentosos foram isolados do solo contaminado por hidrocarbonetos aromáticos. Este estudo da degradação foi realizado com dois tipos de inoculação, pelo inóculo de esporos e de micélio. Uma melhora no grau de degradação HPA total ocorreu com inóculo micelial. A maior degradação foi obtida com *Coniothyrium* sp. (26,5%) e *Fusarium* sp. (27,5%), especialmente para os HPAs que continham mais de três anéis aromáticos (POTIN et al., 2004).

A degradação do antraceno e pireno por fungos de podridão branca *P. gibbosa* no norte da **China** foi melhor do que por *P. ostreatus* que tem sido estudado tanto na China como em outros países (GAO et al., 2010). A degradação do antraceno e do pireno pelo *P. ostreatus* foram apenas 30,12 e 18,76%, respectivamente como podem ser observados na Figura 3. Enquanto pelo *P. gibbosa* por foram 43,43 e 24,26% (Figura 4).

No **Japão** pesquisadores testaram a eficácia da cepa microbiana isolada em solo contaminado por óleo diesel, identificada como *Candida catenulata* CM1. Após 13 dias de compostagem, 84% do petróleo inicial foi degradado em comparação com 48% de taxa de remoção no reator de controle sem inóculo. Este achado sugere que CM1 é uma cepa microbiana viável para biorremediação de solo contaminado por óleo (JOO et al., 2008) (Figura 5).

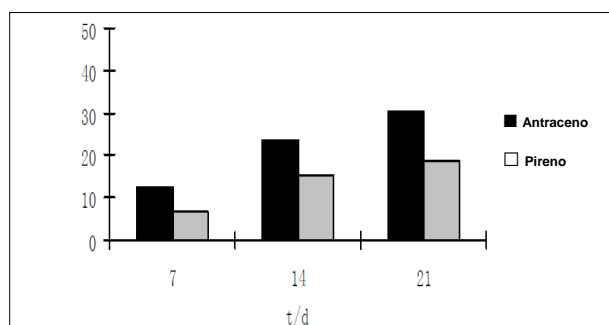
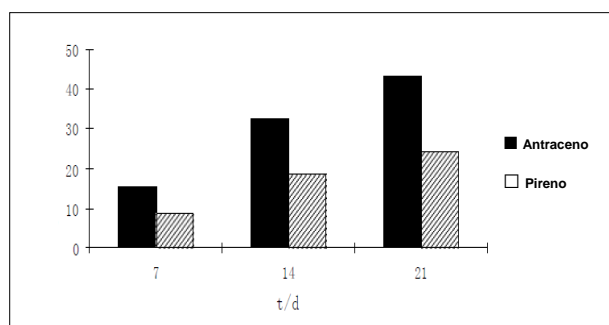
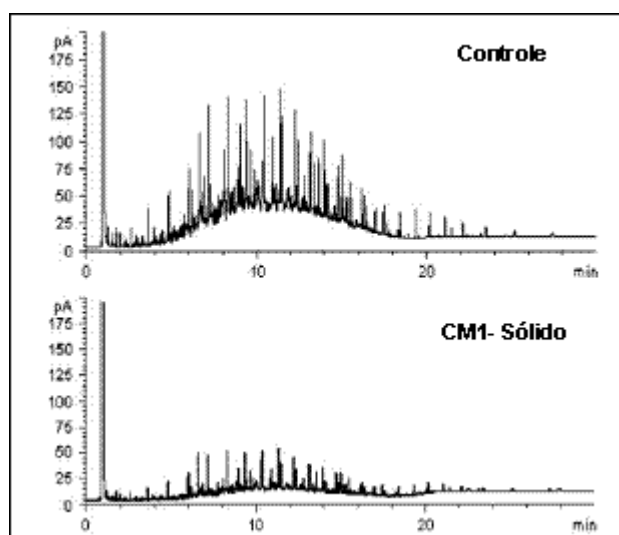


Figura 3. Degradação do antraceno e do pireno pelo *P. ostreatus*. Fonte: GAO et al., 2010.**Figura 4.** Degradação do antraceno e pireno pelo *P. Gibbosa*. Fonte: Gao et al. (2010).**Figura 5.** Cromatografia gasosa do petróleo após 13 dias de tratamento. Fonte: JOO et al., 2008.

No Brasil

Os trabalhos vêm sendo desenvolvidos principalmente pelas Universidades.

Na **Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul** foi realizado o isolamento de fungos em solo contaminado com óleo. Os resultados obtidos foram o isolamento de dez fungos em solo contaminado com atrazine + simazine e cinco fungos em solo contaminado com atrazine. Os gêneros identificados como degradadores de hidrocarbonetos foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* (COLLA et al., 2007).

Alunos da pós-graduação da **Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP)** desenvolveram uma pesquisa onde o principal objetivo foi obter consórcios de micro-organismos a partir de amostra de petróleo e investigar o potencial biotecnológico para aplicação na biodegradação de contaminantes ambientais oriundos da indústria petrolífera. Os consórcios de micro-organismos formados por bactérias, leveduras e fungos filamentosos com atividades oxidases, obtidos a partir de amostra de petróleo sob cultivo submerso e aerado na presença ou não de nutrientes, apresentaram potencial para aplicação na biodegradação de poluentes derivados do petróleo (COSTA et al., 2007).

Na **Universidade de Campinas** foi avaliada em microcosmos com solo a biodegradação de uma mistura de HPAs. Foi testado bioaumentação com fungos e bactérias individuais e um consórcio de fungos. A bioaumentação com o isolado de fungo *Aspergillus* aumentou significativamente o grau de remoção de antraceno e pireno, dois HPA bastante persistente em solos (SILVA et al., 2009).

Outro trabalho que trouxe bons resultados foi o desenvolvido no **Centro de Tecnologia Mineral/Ministério da Ciência e Tecnologia/ Rio de Janeiro**. O objetivo foi isolar e identificar os fungos filamentosos com capacidade degradadora de hidrocarbonetos de petróleo presentes nos solos contaminados da cidade de Guararema. Das 75 colônias isoladas do solo contaminado, 60 apresentaram capacidade para degradar hidrocarbonetos de petróleo. Cuja identificação

as agrupou em 4 gêneros fúngicos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* e *Fusarium*) subdivididos nas seguintes espécies: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium corylophilum*, *Paecilomyces variotti*, *Paecilomyces niveus* e *Fusarium sp.* (LEMOS; ARAUJO, 2002).

Na **Universidade Federal da Bahia** no âmbito do projeto RECUPETRO esta sendo desenvolvido testes a nível de bancada e laboratorial com duas espécies de fungos previamente identificadas como degradadores. Os fungos em teste são *Penicillium sp.* e *Aspergillus fumigatus*.

3. Considerações Finais

Diversos gêneros de fungos têm a capacidade de degradar hidrocarbonetos. Os mais eficientes são do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. Sendo que uma gama de outras espécies possui também a capacidade de degradar tais compostos. Na pesquisa realizada foi possível observar que os fungos possuem maior eficiência em degradar as frações de saturados e aromáticos. Sendo que a maioria dos trabalhos tem foco na degradação dos compostos aromáticos.

Pesquisas futuras devem ser realizadas para otimização do processo, elucidação das vias metabólicas e estudo dos riscos relacionados com a sua aplicação. Sendo de extrema importância estudos em laboratório, em escala piloto, com o objetivo de minimizar maiores impactos ao meio ambiente. Os trabalhos desenvolvidos no mundo e no Brasil mostraram bons resultados para recuperação de áreas degradadas mostrando que a utilização dos fungos como degradadores é uma promissora alternativa para recuperar ecossistemas impactados por atividades petrolíferas.

7. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório de Estudos de Petróleo (LEPETRO) do Instituto de Geociências da Universidade Federal da Bahia, ao Laboratório de Química dos Microorganismos (LBQM) do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, no que se refere aos conhecimentos adquiridos ao longo do desenvolvimento dessa pesquisa, ao curso de Geologia e ao prof. Dr. José Maria Landim Dominguez pela oportunidade e incentivo de ter desenvolvido esse trabalho de Estado da Arte na presente temática.

8. Referências

- ARAÚJO, F.S.M.; LEMOS, J.L.S. Isolamento e identificação de fungos degradadores de petróleo. In: X JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL – CETEM/MCT. 2002, Rio de Janeiro.
Resumo expandido. Rio de Janeiro, 2002. p. 2-8.
- ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbiology**, v. 45, n.1, p.180-209, 1981.
- ATLAS, R. M.. Bioremediation. **Chemical & Engineering News**, v. 3, p. 32- 42, 1995a.
- BALBA, M.; AL-AWADHI, N.; AL-DAHER, R.. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. **Journal of microbiological Methods**, v. 4, p.155-164, Abr 1998.
- BENNETT, J. W.; FAISON, B. D. “Use of fungi in Biodegradation. Em: **Manual of Environmental Microbiology**”, Ed. Christon J. Hurst, J. ASM Press, Washington D. C., USA, p. 758-765, 1997.
- BRITO, N.N.; ZAMORA, P.P.; NETO, A.L.O.; DE BATTISTI, A.; PATERNIANI, J.E.S.; PELEGRINI, R.T. Utilização de fungos na remediação de efluentes industriais. In: IV Fórum de Estudos Contábeis, Faculdades Integradas Claretianas, Rio Claro, SP. **Resumos Expandidos**, Rio Claro, 2002, p. 18-22.
- CASILLAS, R.P.; CROW JR., S.A.; HEINZE, T.M., DECK, J.; CERNIGLIA, C.E.. Initial oxidative and subsequent conjugative metabolites produced during the metabolism of phenanthrene by fungi. **J. Ind. Microbiol.** v.16, p. 205–215,1996.
- CERNIGLIA, CE & PERRY, JJ. Crude oil degradation by microorganisms isolated from the marine environment. **Zeitschrift fur. Allg. Mikrobiologie**, v.13, n.4, p. 299-306, 1973.
- CHAGNEAU, C.H.; MOREL, J.; DUPONT, J.; BURY, E.; OUDOT, J. Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. **Sci. Total Environ**, v.227, p. 237–247, 1999.
- CHHATRE, S.; PUROHIT, H.; SHANKER, R.; KHANNA, P. Bacterial consortia for crude oil spill remediation, **Wat. Sci. Tech.**, v.34, n.10, p.187-193, 1996.

- COLLA, L. M.; PRIMAZ, ANDREIZA L.; LIMA, M. DE.; BERTOLIN, T. E.; VIEIRA, J. A. C. Isolation and screening of fungi to bioremediation from triazine herbicide contaminated soil. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 809-813. 2007.
- COOKSON, J.T. **Bioremediation Engineering: Design and application**. New York, Mc Graw – Hill Inc.: 524p, 1995.
- COSTA, A. F. de S.; SILVA, J. R. R. da; SANTOS, R. C. M. M. dos; FARIAS, C. B. B.; SARRUBO, L. A., JORDÃO, R.C. C.; SALGUEIRO, A. A. Obtenção de consórcio de microrganismos a partir de amostra de petróleo. **Revista Ciências e Tecnologia**, v. 1, n. 1, 2007.
- DAVIS, J.S.; WESTLAKE, D.W.S.. Crude oil utilization by fungi. **Journal of Microbiology**, v.25, p. 146–156,1978.
- DEL'A., J. P.; DE F., F. P.. Biodegradation of crude oil in sandy sediment. **International Biodeterioration e Biodegradation**, v. 44, p.87–92, 1999.
- DIAS, F.G.. **Utilização de consorcio microbiano para biorremediação do meio ambiente contaminado com derivados de petróleo**. 2007. 106f. Tese (Doutorado em Engenharia dos Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo Campinas, 2007.
- ELSHAFIE, A.; ALKINDI, A. Y.; BUSAIDI, S.; BAKHEIT, C.; ALBAHRY S.N. Biodegradation of crude oil and n-alkanes by fungi isolated from Oman. **Marine Pollution Bulletin**, v.54, p. 1692-1696. 29 set. 2007.
- FENIMAN, D. P. G.; FERRARI, F. TRIA, F. D. K.; BALSALOBRE, T. W. A. **Biodegradação Ambiental: Petróleo e Pesticidas**. Disponível em: <http://www.herbario.com.br/bot/toxicologia/biodegre.htm>. Acesso em: 14/11/2009.
- GAO, D.; LIANG, H.; DU, L.; CHEN, J. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by white rot-fungus *Pseudotrametes gibbosa* isolated from the boreal forest in Northeast China. **African Journal of Biotechnology** v. 9, n.41, p. 6888-6893, 2010.
- HAMMEL, K.E., Organopollutant Degradation by Ligninolytic Fungi. In: **Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals**, Young, L.Y. and C.E. Cerniglia (Eds.). Wiley-Liss Inc., New York, p. 331-346, 1995.
- HUNG-SOO, J.; PIUS M. N.; MAKOTO, S., CHAE-GUN, P. Bioremediation of oil-contaminated soil using *Candida catenulate* and food wast. **Environmental Pollution**, v.156. p.891–896, 2008.
- KORDA, A.; SANTAS, A.; TENENTE, A.; SANTAS, R. Petroleum hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, in situ treatments and commercial microorganisms currently used. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 48, p. 677-686, 1997.
- KIRCHMANN, H.; EWNETU, W. Biodegradation de desperdícios petróleo-baseados do óleo com composting. **Biodegradation**. v. 9, p. 151-156, 1998.
- LIMA, M. DE; PRIMAZ, ANDREIZA L.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Isolamento e Seleção de Fungos para Biorremediação de Resíduos de Petróleo e Óleo Vegetal. In: XXI CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA E TECNOLÓGICA EM ENGENHARIA. VI Feira de Protótipos, 2006, Ijuí. **Resumo expandido**. Ijuí, 2006. p. 54-58.
- LAUNEN, L.; PINTO, L.; WIEBE, C.; KIEHLMANN, E.; MOORE, M. The oxidation of pyrene and benzo[a]pyrene by nonbasidiomycete soil fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 477–488, 1995.
- LOPEZ, M.- M. E. ; GARCIA, E.F. ; GOMEZ, C. B. ; VAZQUEZ, R. R. ; CASTANEDA, S. G. ; CORTES, B. J. ; Bioremediation of an aged hydrocarbon contaminated soil by a combined system of biostimulation bioaugmentation with filamentous fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.61 , p.151–160, 2008.
- MARIANO, A. P.. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 2006. 162 f. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas – Rio Claro, SP, 2006.
- MOLLEA, C.; BOSCO, F.; RUGGERI, B. Fungal biodegradation of naphthalene: microcosms studies. **Chemosphere**. v.60, n.5, p.636-43, 2005.
- POTIN, O.; CATHERINE, R.; VEIGNIE, E. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 54, p. 45 – 52, 2004.
- POTHULURI, JV; SELBY, A.; EVANS, F.; FREEMAN, J.; CERNIGLIA, C. Transformation of chrysene and other polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures by the fungus *Cunninghamella elegans*. **Can J Bot**, v.73, p.1025-1033, 1995.
- RAMBELOARISOA, E.; RONTANI, J. F.; GIUSTI, G., DUVNJAK, Z.; BERTRAND, J. C. . Degradation of crude oil by a mixed population of bacteria isolated from sea-surface foams. **Marine Biology**, v. 83, p: 69 – 81, 1984.
- RISER-ROBERTS, E., "Bioremediation of Petroleum Contaminated Sites". CRC Press, Inc. 496p, 1992,
- ROSA, A.P. **Processos de biorremediação na mitigação do impacto ambiental, devido a eventuais derrames de óleo na bacia de campos - experimentos laboratoriais**. 2001. 145f. Tese (Mestrado em Engenharia de Reservatório e Exploração de Petróleo) - Macaé - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 2001.
- SACK, U.; HEINZE, T.M.; DECK, J.; CERNIGLIA, C.E.; CAZAU, M.C.; FRITSCH, W. Novel metabolites in phenanthrene and pyrene transformation by *Aspergillus niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 2906–2909, 1997.

- SINGH, HARBHAJAN. **Mycoremediation : fungal bioremediation**. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 617p. 2006.
- SINGLETON, I. Fungal remediation of soils contaminated with persistent organic pollutants. In G.M. Gadd (ed.) **Fungi in bioremediation**. v. 23, p. 79–96, 2001.
- SILVA, Í. S.; SANTOS, E. DA C. DOS, CRISTIANO, R. DE M. A, FARIA, A. F. DE . Bioremediation of a polyaromatic hydrocarbon contaminated soil by native soil microbiota and bioaugmentation with isolated microbial consortia. **Bioresource Technology**. v.100 p.4669–4675, 2009.
- SILVA, M.; ESPOSITO, E. **O papel dos fungos na recuperação ambiental**. In: Espósito, E.; Azevedo, J.L. (orgs). Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: Educs, p. 337 –378, 2004.
- SOUZA, E. S. **Desenvolvimento de métodos de biorremediação aplicados a derrames de petróleo em água do mar - testes laboratoriais**. 2003. 360f. Tese (Doutorado em Engenharia de Reservatório e Exploração de Petróleo) – Macaé - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 2003.
- SUTHERLAND, J.B. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. **Journal of Industrial Microbiology**, v.9, p.53–62, 1992.
- TANO-DEBRAH, K. FUKUYAMA, S.; OTONARI, N.; TANIGUCHI, F.; OGURA, M. An inoculum for the aerobic treatment of wastewaters with high concentrations of fats and oils. **Biotechnology Resources**, v. 69, p. 133 – 139, 1999.
- VENOSA, A. D.; STEPHEN, J.R.; MACNAUGHTON, S.J.; CHANG, Y. ; WHITE D.C. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill. In: **proceedings of the 8th international symposium on microbial ecology**, Canada. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada, 1999.
- VENOSA, ALBERT D.; ZHU, XUEQING **Guidance for the Bioremediation of Oil-Contaminated Wetlands, Marshes, and Marine Shorelines**. In. Bioremediation of aquatic and terrestrial ecosystem / editors, Science Publishers. 400p, 2006.
- VIDALI, M. Bioremediation: An overview, **Journal of Applied Chemistry**, v.73, n.7, p.1163-1172, 2001.
- WUNDER, T.; KREMER, S.; STERNER, O., ANKE, H. Metabolism of the polycyclic aromatic hydrocarbon pyrene by *Aspergillus niger* SK 9317. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.42, p.636–641, 1994.
- YEUNG, P. Y.; JOHNSON, R.L.; XU, J.G. (1997), Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration, **J. Environ. Qual.** v.26, p. 1511–1576, 1997.