

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE DEGRADAÇÃO DO PETRÓLEO POR MICRO-ORGANISMOS PARA RECUPERAÇÃO DE AMBIENTES IMPACTADOS

Patrícia Nazaré Ferreira dos Santos¹
Edja Lillian Pacheco da Luz²

RESUMO

Devido aos graves e numerosos riscos envolvidos na cadeia petrolífera cresce a demanda por tecnologias que minimizem os efeitos nocivos da contaminação do petróleo no meio ambiente. Logo, o papel dos micro-organismos como agentes biorremediadores é fundamental. Deste modo, o objetivo deste estudo foi através de isolados fúngicos coletados de ambiente poluído por petróleo avaliar o potencial destes micro-organismos de forma isolada e em consórcio para biodegradar os compostos tóxicos do poluente. As amostras foram obtidas no município de São Francisco do Conde-BA, os isolados fúngicos foram submetidos individualmente e em consórcio a testes qualitativos de verificação do potencial degradativo de hidrocarbonetos do petróleo. Foram realizados ensaios de aclimatação e o crescimento microbiano foi verificado por meio da quantificação da biomassa e monitoramento do pH, durante a seleção para formação dos consórcios foram feitos ensaios para investigação de ação antagônica entre os micro-organismos. Posteriormente foi feita a verificação da redução dos níveis de toxicidade do material resultante da degradação. Assim, o consórcio fúngico obtido foi avaliado como potencial agente biorremediador para áreas contaminadas pelo óleo, uma vez que possui a capacidade de degradar compostos tóxicos do petróleo.

Palavras-chave: Consórcio fúngico, Biodegradação, Biorremediação.

INTRODUÇÃO

As degradações dos recursos naturais vêm causando, além de impactos ambientais, consequências negativas socioeconômicas, de acordo com o IBAMA (1990), a degradação ambiental é entendida como a perda das características físicas, químicas e biológicas no meio ambiente, inviabilizando o desenvolvimento socioeconômico.

As consequências das degradações ambientais estão previstas na Política Nacional do Meio Ambiente – Lei nº 6938/81: a) prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; b) criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; c) afetem desfavoravelmente a biota; d) afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente; e) lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal Rural de Pernambuco- UFRPE, san_patty@hotmail.com;

²Mestra pelo curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal Rural de Pernambuco- UFRPE, lillian2800@hotmail.com;

Segundo Santos e Câmara (2002) o impacto ambiental causado por vazamento de óleo na costa brasileira tem sido uma ameaça permanente à integridade dos ecossistemas costeiro e marinho. Com o aumento da produção petrolífera, um grande número de ocorrências de vazamentos e derrames acidentais de petróleo em operações rotineiras (com pequena e média gravidade) tem sido registrado: 191 acidentes entre 1974 e 1994 e 18, entre 1995 e 1998, contribuindo para a poluição crônica em áreas próximas.

As consequências da contaminação de petróleo são evidentes atualmente na costa brasileira, onde o vazamento de petróleo no mar atingiu mais de 2 mil quilômetros de extensão, sendo constatados 161 pontos de contaminação do litoral de todos os estados do Nordeste (BORGES, 2019). Várias espécies marinhas já foram encontradas mortas em decorrência do contato com o óleo, contudo a fauna afetada pode ser ainda maior, uma vez que correntes marinhas tendem a não trazer os animais infectados para a costa.

Como ressaltam Santos e Câmara (2002) a poluição pode atingir drástica e rapidamente o ambiente marinho, causando mortes instantâneas por intoxicação, ou ainda pela bioacumulação, que é o fenômeno através do qual os organismos vivos acabam retendo dentro de si algumas substâncias tóxicas que vão se acumulando também nos demais seres da cadeia alimentar até chegar ao homem, sendo um processo lento de intoxicação e muitas vezes letal.

A metabolização dos poluentes orgânicos depende da sua estrutura química, alguns compostos orgânicos são rapidamente biodegradados por micro-organismos (60 a 90%), enquanto outros são recalcitrantes (10 a 40%) em estado bruto ou refinados. Mesmo em porcentagem menor, compostos não biodegradáveis representam toneladas de poluentes impactando ecossistemas e sendo bioacumulados e biomagnificados na cadeia trófica (PEREIRA; FREITAS, 2012 p. 999; WETLER-TONINI; REZENDE; GRATIVOL, 2010 p.1010).

De acordo com Padilha et al. (2017) o petróleo e seus derivados são responsáveis por impactos ambientais significativos e a fração dos hidrocarbonetos aromáticos BTEX é amplamente utilizada, mesmo sendo considerada altamente tóxica, atuando como depressores do sistema nervoso central. Em consequência aos problemas ambientais e de saúde causados pelos componentes aromáticos, foram desenvolvidos diversos tratamentos físicos, químicos e biológicos para a minimização destes problemas. Segundo Balan (2002) trabalhos atuais em biotecnologia indicam fungos e bactérias como principais micro-organismos eficientes na degradação de poluentes, possuindo alto potencial na recuperação de ambientes contaminados.

Assim, a biorremediação surge como uma tecnologia limpa que utiliza agentes biológicos para reduzir o impacto de áreas contaminadas por produtos químicos (SANTOS et. al., 2018 p.1740). Mariano (2006) explica que as tecnologias de biorremediação podem ser classificadas como *in situ* ou *ex situ*, enquanto no método *in situ*, a transformação ou destruição dos contaminantes ocorre no próprio local, os métodos *ex situ* consistem na remoção do material contaminado para tratamento em local externo ao de sua origem.

Wetler-Tonini, Rezende e Grativol (2010) lembram que nas técnicas de biorremediação *ex situ*, é necessário remover o substrato do local contaminado, biorreatores podem ser utilizados, procedendo-se o tratamento de líquidos ou suspensões no biorreator. A taxa de biodegradabilidade depende do controle de parâmetros físicos-químicos, como pH, disponibilidade de nutrientes, aeração. Após a redução dos contaminantes aos níveis desejados, a suspensão é desidratada e a água pode ser reutilizada no biorreator. A técnica possui a vantagem de degradar poluentes de maneira muito rápida, contudo a quantidade de substrato tratado é limitada pelo tamanho do biorreator.

A Bioestimulação de acordo com Araújo et al. (2014) é um dos tratamentos que compõem o processo de Biorremediação *ex situ*, e também principalmente *in situ*. Nesta ocorre adição de nutrientes (N e P) e oxigênio, estimulando os micro-organismos endógenos, e assim, acelerando o consumo do contaminante no próprio local. A taxa de biodegradabilidade também depende de parâmetros físico-químicos e da manutenção da concentração do inóculo adicionado intermitentemente, durante o período e distribuição uniforme do tratamento. Sendo este um fator bastante importante para aumentar a taxa de biodegradação.

Como sintetiza Moraes Filho e Coriolano (2016) a biorremediação é considerada o aprimoramento da biodegradação, e os seus três principais agentes desta aceleração são: Bioestímulo (acréscimo de nutrientes); Bioaumento (introdução de microrganismos); Biorremediação intrínseca (atenuação natural/monitorada). Para que haja a implementação da biorremediação, a primeira etapa é caracterização do tipo e da quantidade do contaminante, assim como avaliações de ordem biológica, geológica, geofísica e hidrológica do sítio (local) contaminado, avaliação dos seus riscos e a legislação vigente. A partir dos dados obtidos, têm-se a escolha da técnica de biorremediação mais adequada para cada situação. Para verificar a eficiência do processo *in situ*, novos testes de campo devem ser realizados.

Na biorremediação intrínseca, ou biorremediação passiva ocorre uma atenuação natural monitorada que tem atuação na diluição, dispersão, degradação química e biológica,

sorção/precipitação, e/ou decomposição radioativa dos contaminantes do solo e água. Esta técnica limita o deslocamento do contaminante e, conseqüentemente, minimiza a contaminação do meio ambiente. O monitoramento e controle adequados são realizados com o intuito de observar a redução nas concentrações dos contaminantes, toxicidade, massa e volume até níveis aceitáveis à proteção da saúde humana e ao meio ambiente (ARAÚJO, et. al., 2016 p56; WETLER-TONINI; REZENDE; GRATIVOL, 2010 p1015).

Em resumo, como mostra o estudo de Silva e Mesquita (2019) a escolha da técnica mais adequada para remediação de uma área, depende de um correto estudo e levantamento de informações mediante o tipo de contaminante, sua distribuição em área e os efeitos de degradação assim como as características do ambiente contaminado.

Segundo Francisco e Queiroz (2018) dentre as espécies de fungos que degradam poluentes orgânicos, destacam-se: *Bjerkandera adusta*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Inonotus dryophilus*, *Lentinula edodes*, *Phanerochaete sordida*, *Phellinus badius*, *Pleurotus ostreatus*, *Polyporus pinsitus*, *Stereum hirsutum*, *Trametes hirsuta*, *T. versicolor*, *T. villosa*, *Peniophoracinerea*, *Psilocybecastanella*, *Lentinus crinitus*, capazes de degradar antraceno, pentaclorofenol, 3,4-dicloro anilina, dieldrin, fenantreno, creosoto, dibenzo-a-dioxina, dibenzofuranos 25 policlorados, pireno, fluoreno, hexaclorobenzeno. Os autores também citam alternativas para acelerar a biorremediação de contaminantes como a adição de agentes estimulantes, como oxigênio (bioventilação), biossurfactantes (agindo como dispersantes e solubilizantes de compostos orgânicos) e a inoculação de consórcios microbianos enriquecidos (bioaumento).

Silva et al. (2014) destaca que o consórcio utilizado em um processo de biorremediação deve ser previamente selecionado em laboratório, segundo características do meio e do contaminante, pois algumas espécies de microrganismos podem produzir substâncias que inibem outras.

A utilização de consórcios na biorremediação possui o potencial de uma mineralização mais completa do poluente devolvendo ao meio ambiente apenas substâncias inofensivas (água, gás carbônico e sais inorgânicos). Já os tratamentos convencionais podem resultar na descontaminação da área, porém deixando vestígios de outras substâncias não menos nocivas como afirmam Nascimento, et. al., (2017).

Estudos como os de Francisco et al. (2018) apontam para essas e outras vantagens como o custo que é menor quando comparado a outras tecnologias de remediação e o fato de ser considerado ecologicamente viável. Todavia diante da possibilidade de formação de

subprodutos tóxicos avaliações dos níveis de toxicidade após o processo de degradação são indispensáveis.

Assim sendo, o objetivo deste estudo foi através de isolados fúngicos coletados de ambiente poluído por petróleo avaliar o potencial destes micro-organismos de forma isolada e em consórcio para biodegradar os compostos tóxicos do poluente, visando a atuação como agentes biorremediadores de áreas impactadas pela contaminação de petróleo.

METODOLOGIA

Obtenção de Amostras

As amostras foram obtidas a partir de sedimento de manguezal contaminado do Rio São Paulo no município de São Francisco do Conde entre as coordenadas 12°37'40" S – 38°40'48" O (Figura1) onde atua a refinaria Landulpho Alves-Mataripe (RLAM) pertencente a Petrobrás.



Figura 1. Localização do Município de São Francisco do Conde-BA. **Fonte:** G1.com (2011)

Micro-organismos

As linhagens isoladas do sedimento foram catalogadas e fazem parte da sub-coleção de micro-organismos isolados de ambientes contaminados por petróleo ou derivados pertencentes à coleção de culturas do Departamento de Antibióticos do Centro de Ciências Biológicas-UFPE entre as linhagens utilizadas neste estudo estão as leveduras UFPEDA848, UFPEDA857, UFPEDA858 e UFPEDA860, além das linhagens de fungos filamentosos UFPEDA870, UFPEDA880, UFPEDA884, UFPEDA885, UFPEDA886 e UFPEDA889.

Seleção e verificação do potencial de degradação dos isolados e do consórcio fúngico

Os isolados fúngicos foram submetidos individualmente e em consórcio, a um teste qualitativo de verificação do seu potencial degradativo de hidrocarbonetos do petróleo. Para isolados individuais foi empregada a técnica do indicador redox 2,3,5- cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) em Erlenmeyer, preconizada por Gomes et al. (2004). O indicador TTC atua como acceptor final de elétrons no processo de oxidação biológica, mudando de coloração quando ocorre o processo de oxiredução. Nos casos em que o isolado fúngico testado era capaz de oxidar algum dos compostos presentes no petróleo era observada a mudança de coloração dos blocos de gelose no meio de cultura de incolor para rosa.

A concentração de TTC utilizada foi de 0,06g/mL e de glicose foi de 10 g/ 100 mL. O teste de seleção foi realizado em triplicata e um controle biótico, cada Erlenmeyer continha 50 mL de meio BushnellHass, dois blocos de gelose de cada linhagem, 0,5mL de glicose e 0,25 mL de TTC, no controle biótico duplicado, cada Erlenmeyer continha 50 mL de meio BushnellHass, dois blocos de gelose (0,6mm) de cada linhagem, 0,5mL de petróleo e 0,25 mL de TTC, e um único controle abiótico cada Erlenmeyer continha 50 mL de meio BushnellHass, sem blocos de gelose, 0,5mL de petróleo e 0,25 mL de TTC. Os Erlenmeyer preenchidos foram incubados à 35°C e os tempos de redução do indicador TTC no meio BH foram determinados.

Ensaio de Aclimação

Os ensaios de aclimação foram realizados em Erlenmeyer (500 mL), contendo 95 mL de meio mineral Bushnell Hass, três blocos de gelose (0,6mm) e 5mL de petróleo. Os frascos foram submetidos à agitação de 150 rpm e à temperatura de 30°C, durante sete dias.

Transferiu-se 2 mL das linhagens aclimatadas a 5% para placa de Petri para verificação do crescimento. Após sete dias de cultivo a 5%, também foram retirados 5mL do material bioprocessado para compor o inóculo do experimento seguinte contendo 10% de petróleo. Os frascos foram submetidos novamente a agitação de 150 rpm e à temperatura de 30°C, durante sete dias com posterior avaliação do crescimento em placa a 10% (AZEVEDO, 2010).

Biomassa e pH

A determinação da biomassa foi realizada através da medida do peso seco. A suspensão micelial foi filtrada a vácuo e a massa celular transferida para estufa por um período de 24 horas a 80°C até peso constante. O pH foi medido a partir do líquido metabólico livre de células em potenciômetro (AZEVEDO, 2010).

Ensaio de Antagonismo

Para a realização do teste de antagonismo fúngico utilizou-se placas de Petri com meio Sabouround. Foram preparados blocos de gelose (6mm Ø) contendo fungos filamentosos, crescidos por 7 dias em meio Sabouround, estes foram transferidos para as placas de Petri. O material foi incubado a 35°C por 24 horas e após esse período, não foi observada a formação de halos de inibição do crescimento fúngico, indicativa da ausência de antagonismo (SOUZA, 2009).

Teste de Toxicidade

O efeito da toxicidade do material residual, proveniente do processo de biodegradação do petróleo em biorreator, foi avaliado utilizando sementes da espécie *Cucumissativus* L. (pepino), segundo a metodologia de Tiquia e Hodgkiss (1996) modificado. As sementes, inicialmente, sofreram um processo de desinfecção passando 1 minuto em água destilada estéril, em seguida o mesmo tempo em hipoclorito de sódio a 1% e novamente em água destilada estéril. Placas de Petri (10 x 100 mm) foram utilizadas, contendo papel de filtro impregnado com 5mL do material biodegradado e 10 sementes cada, distribuídas de forma equidistantes. Paralelamente, foi realizado controle com placas contendo água destilada esterilizada e outras com o petróleo. Todos os testes foram realizados em triplicata, sob a

temperatura de 25°C. Após seis dias de incubação no escuro foi feita a verificação da germinação das sementes (Silva, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Andrade, Augusto e Jardim (2010) os micro-organismos metabolizam as substâncias orgânicas, das quais se obtêm nutrientes e energia. Sendo que, para que isso ocorra, os micro-organismos devem estar ativos para desempenharem a sua tarefa de biodegradação. Para avaliar a atividade das linhagens foi verificado o crescimento da biomassa microbiana através da sua aclimação em placas contendo petróleo como fonte de carbono, os resultados de biomassa no primeiro e trigésimo dia dos ensaios podem ser observados nas concentrações de 5% (Figura 2) e 10% de petróleo (Figura 3).

O monitoramento do pH durante os experimentos foi fundamental, uma vez que o pH é um fator que age como agente selecionador dos microrganismos ativos. Leahy e Colwell (1990) sugerem que valores de pH entre 6 e 8 são os mais favoráveis à ação de microrganismos degradadores de petróleo, sendo que os fungos são mais tolerantes a condições ácidas, as variações ocorridas ao longo do processo de aclimação em 5% e 10 % de petróleo são observadas nas figuras 4 e 5.

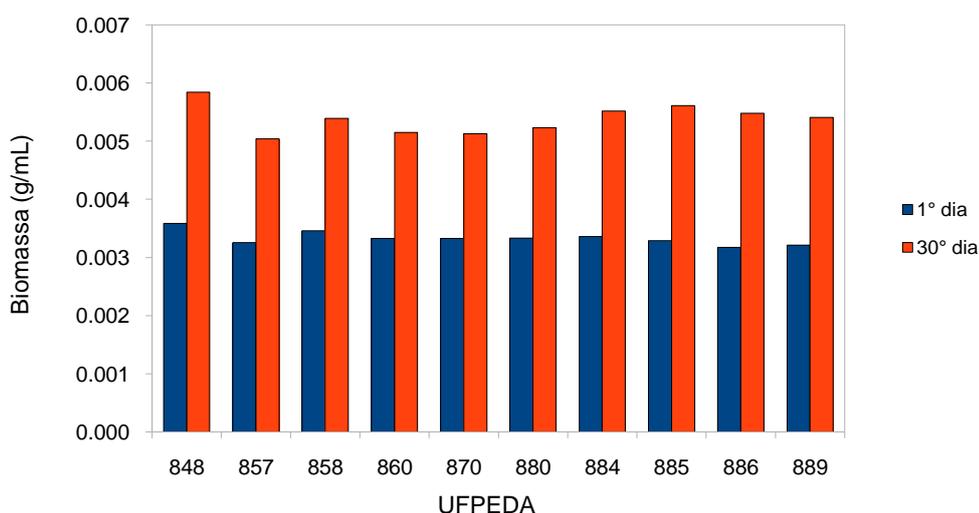


Figura 2. Quantificação de biomassa na aclimação das linhagens isoladas em concentração de 5% de petróleo

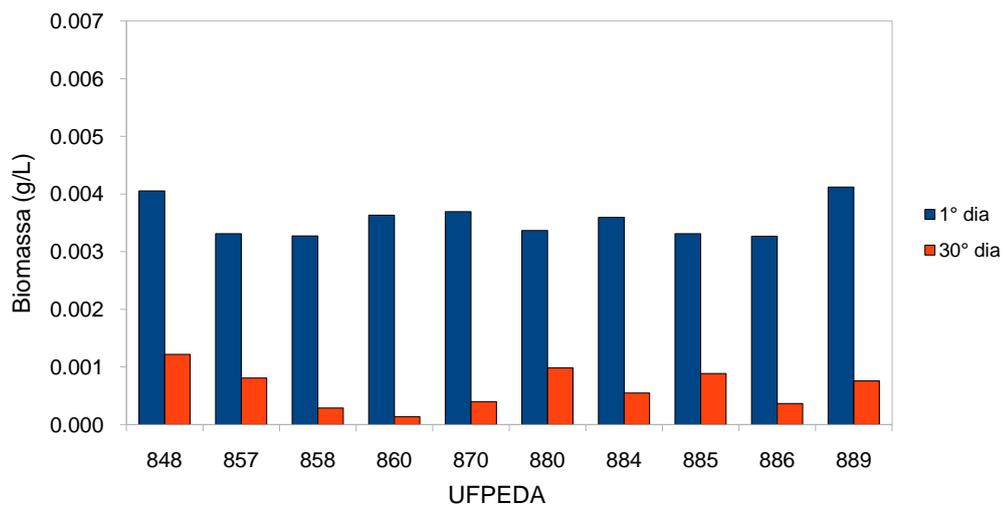


Figura 3. Quantificação de biomassa na aclimação das linhagens isoladas em concentração de 10% de petróleo

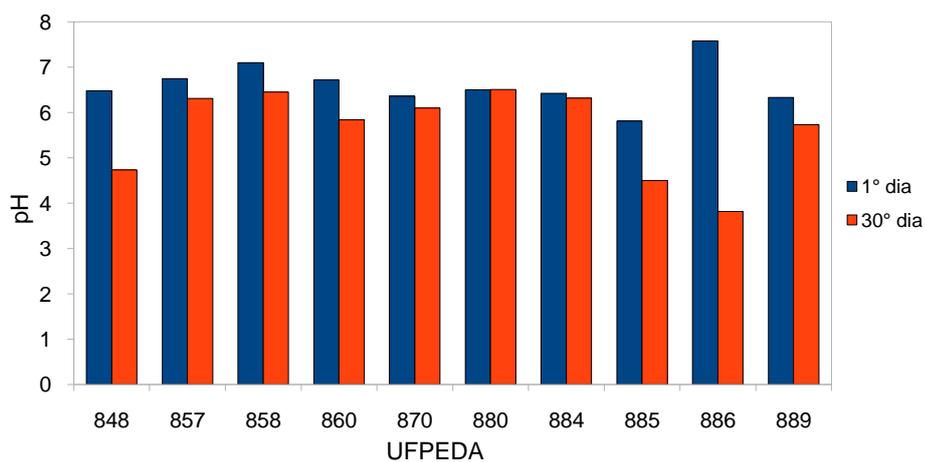


Figura 4. Monitoramento dos níveis de pH na aclimação das linhagens em concentração de 5% de petróleo

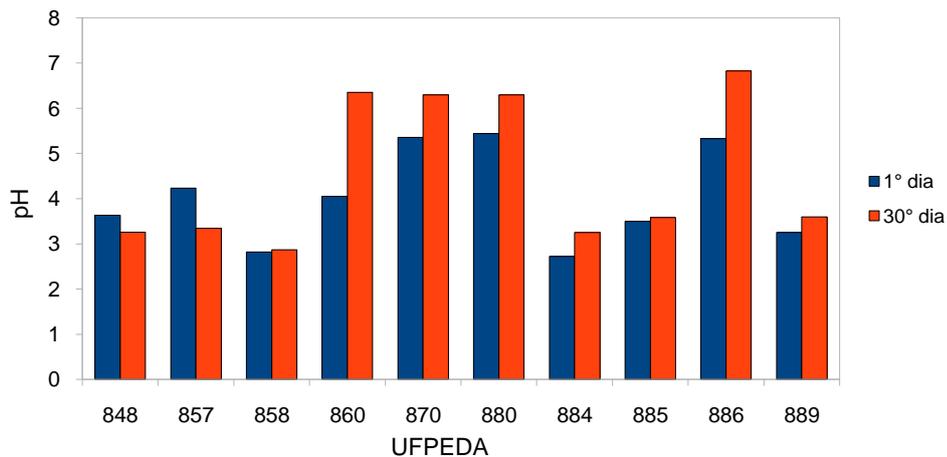


Figura 5. Monitoramento dos níveis de pH na aclimação das linhagens em concentração de 10% de petróleo

Após a aclimação, foi feito o teste de antagonismo para a escolha do consórcio, pois o crescimento em placa das linhagens escolhidas, não eliminou nenhuma delas para formação de consórcio. Foram testadas 11 combinações entre quatro, três ou duas linhagens. Dentre as linhagens de fungos e leveduras nenhuma sofreu inibição. O processo de oxidação biológica foi verificado pelo teste indicador TCC, os resultados obtidos encontram-se no quadro 1.

As linhagens 880 UFPEDA, 858 UFPEDA, 848 UFPEDA, 889 UFPEDA e 860 UFPEDA não apresentaram mudança na coloração. Mesmo apresentando crescimento em placas com concentrações de 10% petróleo, logo, consórcios compostos por alguma dessas linhagens foram invalidados como agentes biodegradadores.

Quadro 1. Isolados fúngicos que apresentaram oxidação de compostos do petróleo

<i>UFPEDA</i>	<i>Houve oxidação</i>	<i>Não houve oxidação</i>
848		x
857	x	
858		x
860		x
870	Pouca oxidação	
880		x
884	x	
885	x	
886	x	
889		x

Dentre os consórcios qualificados foram: C1 (857, 884, 885 e 886); C4 (857, 885 e 886) e C8 (857 e 886). Entre os quais, o composto C1 apresentou melhor desempenho, dados sobre a quantificação de biomassa e monitoramento de pH nas diferentes concentrações da fonte oleosa podem ser observados nas figuras 6 e 7. O emprego de consórcios microbianos, onde várias espécies atuam simultaneamente para degradar o contaminante como ressalta Luz et al. (2016) são mais eficientes principalmente em se tratando de petróleo e derivados que são constituído por vários tipos de hidrocarbonetos complexos, e um consórcio composto por uma maior variedade de espécies pode oferecer uma maior degradação do contaminante.

Através da formação de um consórcio como explicado por Leonel et al. (2010) microorganismos que não apresentam potencial para degradar completamente determinado composto, poderão transformá-lo em uma substância degradável por um segundo microorganismo favorecendo uma biodegração completa.

Estudos como o de Souza e Trigüis (2005) mostram como a biorremediação pode ser usada na recuperação de áreas costeiras contaminadas por petróleo, complementando a ação do intemperismo na remoção dos principais componentes do petróleo. Os autores apontam que o sucesso da aplicação da biorremediação depende da presença de microrganismos específicos e de condições ambientais adequadas, para que a biodegradação ocorra. Os microrganismos devem ser capazes de metabolizar os constituintes do petróleo. Em muitos

casos, esses organismos já fazem parte da microflora local em outras circunstâncias, em que se verifica sua carência, precisam ser adicionados (microrganismos exógenos). Parâmetros ambientais podem ser alterados ou controlados para otimizar o crescimento e as atividades metabólicas dos microrganismos.

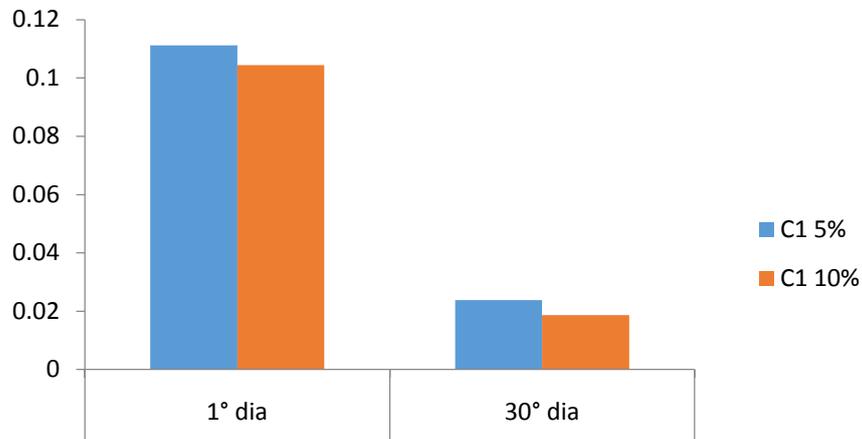


Figura 6. Quantificação de biomassa do consórcio C1 em meio a diferentes concentrações de petróleo

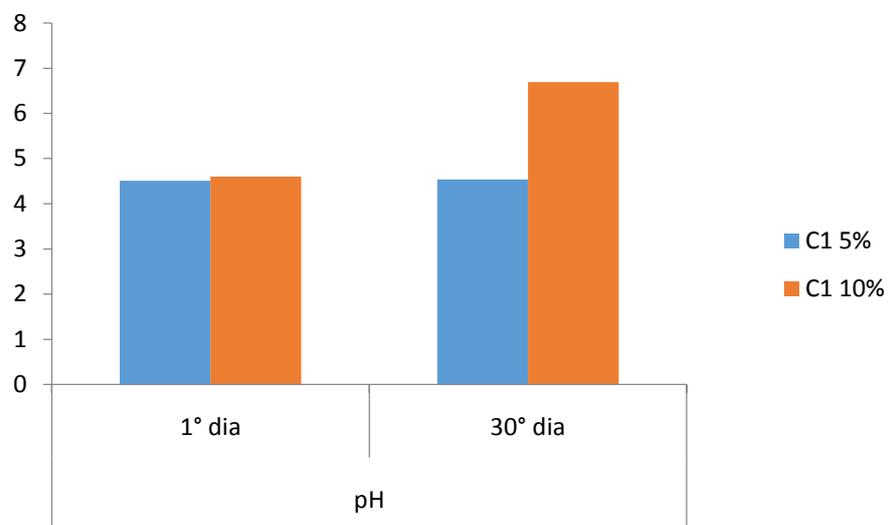


Figura 7. Monitoramento dos níveis de pH do consórcio C1 em meio a diferentes concentrações de petróleo

Por fim, o material residual do processo de biodegradação realizado pelo consórcio fúngico C1 foi submetido ao teste de fitotoxicidade, onde os resultados apontaram redução dos níveis de toxicidade, confirmando a ampla capacidade de degradação dos compostos tóxicos pelo consórcio.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consócio fungico obtido a partir das linhagens avaliadas isoladas de um ambiente já impactado apresenta aplicabilidade ambiental como agente biorremediador, como foi verificado este apresenta potencialidade em degradar os compostos tóxicos presentes no petróleo.

Durante a fase de obtenção de consórcios para otimização do processo de biodegradação realizadas pelos microorganismos o uso do consórcio formado pela levedura 857 e pelos fungos filamentosos 884, 885 e 886 mostrou melhor desempenho em utilizar o petróleo como fonte de carbono. A análise feita através do material residual da degradação de petróleo comprovou redução dos níveis de toxicidade revelando que o consócio fúngico pode ser uma importante ferramenta na biorremediação de ambientes impactados por esse poluente.

As linhagens que compõem o consócio fúngico estudado apresentam potencial para a produção de biossurfactantes estudos posteriores podem ser realizados para analisar esse potencial quanto a sua produção e eficiência, através de análises de parâmetros como a redução da tensão superficial, redução da tensão interfacial, emulsificação e concentração micelar crítica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a toda equipe participante do projeto Recupetro do laboratório de Biorremediação de Ambiente Poluído por Petróleo ou Seus Derivados-BAPPD, do Departamento de Antibióticos no Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, em especial a professora coordenadora Maria de Fátima Vieira de Queiroz Sousa.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética química**, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010.

ARAÚJO, A. M.; GONÇALVES, C.; NASCIMENTO, E. M.; MACHADO, E. C.; MOREIRA JÚNIOR, J.; SILVA, J. C.; OLIVEIRA, M. A.; BRISA, P.; PIRES, P. H. Protocolo para biorremediação de águas contaminadas por petróleo e derivados. **e-xacta**, v. 7, n. 1, p. 55-63, 2014.

AZEVEDO, L.M.L. **Potencialidade de degradação do petróleo por fungos isolados de manguezal impactado**. 2010. 69f. Dissertação (Mestrado em Biologia dos Fungos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

BALAN, D.S.L. A indústria têxtil e o meio ambiente. Tecnologia Limpa e controle ambiental. **Química Têxtil**, Barueri, v.66, p.26-31, 2002.

BORGES, A. **200 toneladas de óleo foram recolhidas nas praias do Nordeste**. O Estado de S.Paulo, São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://sustentabilidade.estadao.com.br/noticias/geral,200-toneladas-de-oleo-foram-recolhidas-nas-praias-do-nordeste,70003049303>>. Acesso em 14 out. 2019.

BRASIL. Constituição (1988). **Lei nº 6938, de 31 de agosto de 1981**. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Brasília. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L6938.htm>. Acesso em: 01 out. 2019.

FRANCISCO, W. C.; QUEIROZ, T. M. Biorremediação. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 249-256, 2018.

GOMES, E. B. **Biodegradabilidade de Querosene de Aviação Movimentado pelo Terminal Portuário de Suape-PE**. 2004. 128f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis –IBAMA. **Manual de recuperação de áreas degradadas pela mineração: técnicas de revegetação**. IBAMA, Brasília, 1990.

LEAHY, J. G.; COLWELL, R. R. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. **Microbiological Reviews**; v. 54, nº 3, p. 305-315, 1990.

LEONEL, L. V.; NASCIMENTO, E.G.; BERTOZZI, J.; BÔAS, L.A.V.; BÔAS, G.T.V. Biorremediação do solo. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 37-52, 2018.

LUZ, E. L. P.; SILVA, D.P.S.; MEDEIROS, M.C.; BEZERRA, A.P.G.; LORENA, E.M.G.; SANTOS, I.G.S. Pollution mitigation for hydrocarbons of Petroleum through the Bioremediation. **Revista Geama**, v. 2, n. 4, p. 482-491, 2016.

MARIANO, A. P. **Avaliação do potencial de biorremediação de solos e de águas subterrâneas contaminados com óleo diesel**. 2006. 147 f. Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Geociências e Meio Ambiente, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2006.

MORAIS FILHO, C. M.; CORIOLANO, A. C. F. Biorremediação, uma alternativa na utilização em áreas degradadas pela indústria petrolífera. **Holos**, v. 7, p. 133-150, 2016.

NASCIMENTO, E. A.; ARAÚJO, J. C. S. B.; MACHADO, K. M. G.; Aplicação da biorremediação no Estado de São Paulo. **Leopoldianum**, v. 42, n. 116-8, p. 17-34, 2017.

PADILHA, M.T.; SAMPAIO, J. ; LONGONI, L.; BENEDUZI, A. Isolamento de linhagens bacterianas degradadoras de hidrocarbonetos BTEX proveniente do setor petroquímico. **Scientia Plena**, v. 13, n. 9, 2017.

PEREIRA, A. R. B.; FREITAS, D. A. F. Uso de micro-organismos para a biorremediação de ambientes impactados. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 6, n. 6, p. 995-1006, 2012.

SANTOS, S. C.; CASTRO, D. C. M.; ASSUNÇÃO, P. SALES; SANTOS, T. L.; QUINTELLA, C. M. Mapeamento Tecnológico de Processos Microbianos Aplicados na Biorremediação de Metais Pesados. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, n. 5, p. 1740, 2018.

SANTOS, T.C.; CÂMARA, J.B.D. (Org.). **Geo Brasil 2002: perspectivas do meio ambiente no Brasil**. Edições Ibama, 2002.476 p.

SILVA, D. P. S. **Biodegradação de Petróleo por Consórcio Bacteriano**. 2009. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SILVA, J. S. S. SANTOS, S. S. S. GOMES, F. G. G. A biotecnologia como estratégias de reversão de áreas contaminadas por resíduos sólidos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental-REGENT**, v. 18, n. 4, p.1361-1370, 2014.

SILVA, P. K. O. S; MESQUITA, M. V. Avaliação do processo de remediação em área contaminada por hidrocarboneto. **Revista Engenharia e Tecnologia Aplicada-UNG-Ser**, v. 2, n. 1, p. 9-14, 2019.

SOUZA, E. S.; TRIGÜIS, J. A. Degradação do petróleo em derrames no mar - Intemperismo x Biorremediação. **Anais...In: 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gas**. Salvador, 2006. Disponível em: <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0234_05.pdf>. Acesso em 01out. 2019.

SOUZA, F.S.; MENDES, A.B.; SILVA, D.L.; BAPTISTA, N.M.Q. MACIEL, C.C.S.; GUSMÃO, N.B. Avaliação de antagonismo microbiano entre fungos isolados de ambiente poluído e bactérias patogênicas. **Anais...In:IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão da UFRPE- JEPEX**, 2009. Disponível em:<<http://www.eventosufrpe.com.br/jepeX2009/cd/resumos/R0659-1.pdf>>. Acesso em 01 out. 2019.

TIQUIA. S. M.; TAMA, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. **Effectes of composting on phytotoxicity or spente pig-manure sawdust litter**. *Environmental Pollution*, v. 93, p. 249-256, 1996.

WETLER-TONINI, R. M. C. W; REZENDE, C. E. ; GRATIVOL, A. D. Degradação e biorremediação de compostos do petróleo por bactérias: revisão. **OecologiaAustralis**, v. 14, n. 4, p. 1025-1035, 2010.