



ARTIGO

Sensibilidade e tolerância de cianobactérias de solos, submetidas à ação de hidrocarbonetos de petróleo

Alberto Abrantes Esteves Ferreira^{1,2*}, Rinamara Martins Rosa^{1,3} e Rosane Aguiar^{1,4†}

Recebido: 13 de agosto de 2011 Recebido após revisão: 20 de dezembro de 2011 Aceito: 01 de fevereiro de 2012
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1989>

RESUMO: (Sensibilidade e tolerância de cianobactérias de solos submetidas à ação de hidrocarbonetos de petróleo). O presente trabalho objetivou selecionar cepas de cianobactérias para serem utilizadas em processos de bioindicação e biodegradação de ambientes contaminados com hidrocarbonetos e avaliar sua sensibilidade/tolerância quando expostas a esses compostos. Para testar a sensibilidade/tolerância aos derivados de hidrocarbonetos foram utilizadas as espécies *Gloeotrichia natans* e *Phormidium bohneri*, as quais foram submetidas a soluções contendo diesel comum, gasolina comum e naftaleno. Os resultados demonstraram que o efeito da concentração, o tempo de exposição e o tipo de poluente influenciaram, significativamente, as taxas de crescimento em ambas as espécies. Os dados sugerem que *Gloeotrichia natans* pode ser empregada como espécie bioindicadora e o *Phormidium bohneri* como espécie biorremediadora, tendo em vista as estratégias apresentadas pelas cepas avaliadas.

Palavras-chave: cianobactéria, biorremediação, bioindicação, hidrocarbonetos.

ABSTRACT: (Sensibility and tolerance of cyanobacteria soil subjected to the action of petroleum hydrocarbons). This work aimed to select strains of cyanobacteria with the potential to bioindication and biodegradation processes of hydrocarbon contaminated environments and to evaluate the sensibility and tolerance of the organisms when exposed to such compounds. To test the sensibility and tolerance to hydrocarbon derivatives were used the species *Gloeotrichia natans* e *Phormidium bohneri*, which were cultivated in solutions containing diesel, gasoline and naphthalene. The results showed that the exposure time, concentration and types of contaminants influenced significantly the growth rates in both species. The data suggest that *Gloeotrichia natans* can be employed as bioindicator species while *Phormidium bohneri* indicates a species with potential for bioremediate in view of the answers provided by the strains.

Key words: cyanobacteria, bioremediation, bioindication, hydrocarbons.

INTRODUÇÃO

O petróleo é uma mistura complexa de hidrocarbonetos (HCs) e outros compostos orgânicos, incluindo constituintes organometálicos que, notavelmente, complexam vanádio e níquel (Van Hamme *et al.* 2003).

A crescente ocupação do globo terrestre pelo homem tem causado uma série de incidentes, especialmente em áreas ecologicamente frágeis. Dentre esses fatos, podemos destacar o episódio ocorrido no Alasca, no qual o navio-tanque Exxon Valdez despejou mais de 200.000 barris de petróleo ao longo da região costeira (Leahy & Colwell 1990); o derramamento ocorrido na Baía Paraíso, na Antártica (Kennicutt & Sweet 1992); o desastre ecológico ocorrido no ano 2000 na Baía de Guanabara, RJ, quando aproximadamente cerca de 1,3 milhões de litros de petróleo bruto foram derramados ao longo de 5 km da costa brasileira (Souza *et al.* 2006); e o mais recente incidente, ocorrido no Golfo do México, entre os meses de abril e agosto de 2010, com o extravasamento de aproximadamente 68.000 barris de petróleo por

dia (Crone & Tolstoy 2010). Tais incidentes causaram prejuízos que demandarão cerca de 20 anos para que a natureza retorne ao equilíbrio.

Os biofilmes, compostos predominantemente por cianobactérias, em termos de biomassa, têm sido frequentemente observados recolonizando áreas atingidas pelos derramamentos, mostrando indícios do papel dessas comunidades na biodegradação dos hidrocarbonetos (Höpner *et al.* 1996, Radwan *et al.* 2001, Barth 2003). Chaillan *et al.* (2006), relatam que os biofilmes de cianobactérias foram eficientes na biodegradação de petróleo bruto em regiões contaminadas da Indonésia. Estas esteira naturais demonstraram também uma forte atividade de degradação do óleo cru sob condições de laboratório.

O emprego de microorganismos capazes de sequestrar ou degradar compostos de hidrocarbonetos em ambientes contaminados é uma estratégia promissora nos processos de biorremediação. Estudos têm indicado essa tecnologia como a melhor opção para mitigar

1 Laboratório de Ficologia, Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa (UFV). Avenida P.H. Rolfs s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil.

2. Aluno de graduação em Ciências Biológicas e bolsista de iniciação científica da FAPEMIG.

3. Aluna de graduação em Ciências Biológicas e bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET).

4. Doutora em Botânica. Professora da Universidade Federal de Viçosa.

* Autor para contato. E-mail: alberto.esteves@ufv.br

† Falecido em outubro de 2011.

problemas de contaminação ambiental, pois se trata de uma alternativa de baixo custo, alta efetividade e caráter menos invasivo, sob o ponto de vista ecológico (Allard & Neilson 1997, Chavan & Mukherji 2008).

A identificação dos organismos que desempenham papel chave no processo de degradação de poluentes é essencial para o desenvolvimento de estratégias que otimizem a biorremediação *in situ* (Abed *et al.* 2002, 2005, Raghukumar *et al.* 2001). Contudo, a dificuldade de obtenção de culturas comprovadamente axênicas de cianobactérias não permite desvendar o papel desses micro-organismos como biodegradadores. A pergunta persiste: as cianobactérias participam direta ou indiretamente no processo de degradação dos compostos derivados do petróleo?

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a sensibilidade e tolerância de duas espécies de cianobactérias, *Gloeostrichia natans* (Hedwig) Rabenhorst e *Phormidium bohneri* Schmidle, quando expostas a diferentes fontes de hidrocarbonetos e selecionar possíveis cepas quanto ao potencial para serem empregadas em processos de bioindicação e biodegradação de ambientes contaminados com hidrocarbonetos de petróleo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de biofilmes de cianobactérias foram coletadas em calhas de escoamento de rejeitos em postos de abastecimento de combustível na cidade Viçosa, MG. Em todos os locais amostrados foi constatada a presença de uma mistura de hidrocarbonetos (Fig. 1). A amostragem foi feita através de raspagens superficiais das áreas colonizadas, com auxílio de espátula. Após a coleta, os fragmentos de biofilmes foram acomodados em placas de Petri e transportados para o Laboratório de Ficologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) para análises posteriores.

Amostras dos fragmentos foram enriquecidos em meio de cultura AA₄ (Allen & Arnon 1955, modifica-

do por Corrêa 2007) e BG11 (Allen 1968, modificado por Pontes 1988), suplementados ou não com fontes de nitrogênio combinado. Os cultivos foram mantidos em sala de cultivo sob fotoperíodo de 16:8 horas (luz/escuro), temperatura de 21 ± 2 °C e intensidade luminosa igual a 80 μmols.m².s⁻¹, conforme descrito por Aguiar (2000). O isolamento das diferentes cepas de cianobactérias foi realizado através das técnicas de micropipetagem, diluição em série e estriamento sucessivo em meio sólido. Também foram empregadas técnicas de desinfecção como lavagens em hipoclorito de sódio (3%) e aplicações de agentes antimicrobianos (ciclohexamida, 50 μg.mL⁻¹). A identificação, em nível específico, foi feita através de medição de células e consultas à literatura especializada (Komárek 1992).

As determinações de crescimento foram baseadas na produção de biomassa calculada a partir do conteúdo de clorofila *a* (chl *a*), sendo as leituras realizadas em intervalos de 24 horas, durante 12 dias consecutivos. O crescimento das cepas foi monitorado por meio de mudanças ocorridas na densidade óptica (OD) das amostras, utilizando-se um espectrofotômetro modelo Hitachi U2000. A determinação da absorbância do extrato metanólico foi realizada no comprimento de onda de 663 nm (A663), usando-se o metanol puro (branco). O cálculo da constante de chl *a* foi feito com base na fórmula descrita por Mcknney & Mcknney (1941). Os dados obtidos foram plotados em um gráfico, sendo descrita a curva de crescimento característica para cada espécie isolada. O tempo de geração foi calculado com base na fase Log *e*, sendo esta a fase de maior aproveitamento de nutrientes e, conseqüentemente, de maior atividade metabólica, todos os experimentos de sensibilidade e tolerância aos hidrocarbonetos foram feitos com células nesta fase do crescimento.

As espécies foram submetidas aos seguintes tratamentos: gasolina comum e diesel comum, coletados em um posto de abastecimento de combustível, e naftaleno P.A. (C₁₀H₈). Os

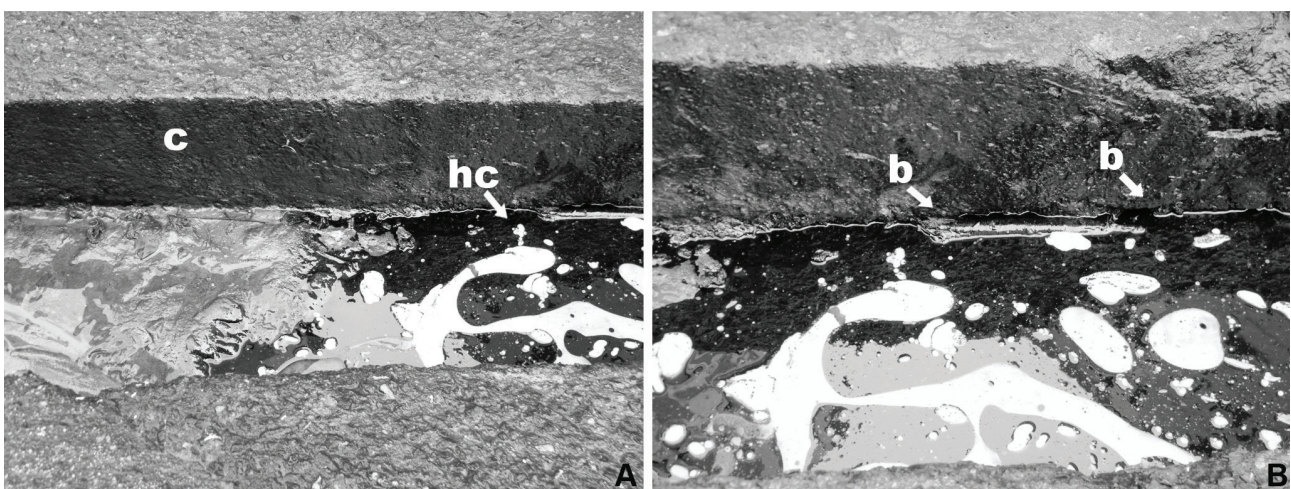


Figura 1. Área de coleta dos biofilmes contendo a presença de hidrocarbonetos. Abreviações: c, calha de escoamento de rejeitos; hc, hidrocarbonetos de petróleo; b, biofilmes de cianobactérias sobre a superfície da calha.

hidrocarbonetos foram adicionados junto ao meio AA₄, nas seguintes concentrações: 0,25 µg.L⁻¹, 0,5 µg.L⁻¹, 1 mg.L⁻¹ e controle (meio de cultura com ausência de hidrocarbonetos), sendo o meio suplementado ou não com fontes de nitrogênio combinado. Os frascos foram mantidos durante 72 horas, nas mesmas condições de crescimento descritas anteriormente, para o isolamento das cepas. Foram realizadas três leituras de chl *a* para a espécie *P. bohneri* e quatro leituras para *G. natans*, sendo essa diferença devida aos tempos de geração de cada espécie.

O delineamento experimental consistiu em blocos inteiramente casualizados (DBC), com três repetições. Para a análise estatística dos dados, foi utilizado o teste de Liliefors para a normalidade dos resíduos da ANOVA. Como a pressuposição foi atendida para todas as quantificações do conteúdo de chl *a* ($p < 0,01$), a análise de variância (ANOVA) foi realizada e as médias separadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$), utilizando-se o software estatístico SigmaPlot versão 11.0.

RESULTADOS

A análise das amostras sob microscopia óptica revelou a predominância de organismos representantes das Cyanophyceae, da Ordem Oscillatoriales, compondo o biofilme. Foram registradas três espécies de cianobactérias, sendo que a espécie *P. bohneri* foi registrada com maior abundância, seguida por *Pseudanabaena* sp. As características morfológicas dessas duas cepas incluem filamentos homocitados, não ramificados, finos, lisos e organizados em camadas. Filamentos de *G. natans* (Nostocales) também foram encontrados. Além das cianobactérias, representantes do Phylum Chlorophyta, Ordem Chlorococcales, também foram observados nas amostras constituindo a ficoflora do biofilme, porém, com poucos representantes.

Dentre as espécies registradas no biofilme, as cepas de cianobactérias *G. natans* (Nostocales) e *P. bohneri*

(Oscillatoriales) foram selecionadas para os experimentos posteriores, utilizando como critério às características distintas (filamentos heterocitados e homocitados) apresentadas pelas espécies (Fig. 2).

Com base nos dados obtidos nas curvas de crescimento, os tempos de geração (Tg) de cada uma das espécies foram calculados. Para dobrar a população, *G. natans* apresentou um Tg equivalente a 18 h, enquanto que para *P. bohneri* o Tg foi igual a 24 h. Após a análise do Tg, as espécies foram avaliadas quanto ao seu potencial de sensibilidade e tolerância à exposição aos hidrocarbonetos.

Em *G. natans*, após ter sido cultivada durante 72 horas em naftaleno adicionado ao meio AA₄, apresentou aumento de 0,48 µg.mL⁻¹ e 0,47 µg.mL⁻¹ de incremento de biomassa (conteúdo de chl *a*) para as concentrações de 0,25 µg.L⁻¹ e 0,5 µg.L⁻¹, respectivamente. As médias de absorvância obtidas para essas concentrações não apresentaram diferenças significativas, segundo o teste de Tukey, quando comparadas ao controle. Para a concentração de 1 mg.L⁻¹ de naftaleno, observou-se um aumento significativo da biomassa (crescimento) correspondente a 0,34 µg.mL⁻¹ de chl *a* em um intervalo de 54 h de cultivo. Porém, nas últimas 18 h houve uma redução significativa na produção de biomassa equivalente a 0,2 µg.mL⁻¹ de chl *a* (Fig. 3A). Quando cultivada na presença do diesel comum, *G. natans* apresentou redução significativa no conteúdo de chl *a* correspondentes a 0,11 µg.mL⁻¹ e 0,12 µg.mL⁻¹, nas concentrações 0,25 µg.L⁻¹ e 0,5 µg.L⁻¹, respectivamente, após as 72 horas de cultivo. No entanto, não foi constatado crescimento quando cultivada na concentração de 1 mg.L⁻¹ de diesel (Fig. 3B). Quando *G. natans* foi cultivada em gasolina comum, após 72 horas de cultivo, mostrou as menores taxas de crescimento: 0,059 µg.mL⁻¹, 0,047 µg.mL⁻¹ e 0,046 µg.mL⁻¹ de chl *a*, para as concentrações de 0,25 µg.L⁻¹, 0,5 µg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹, respectivamente. Foi evidenciada diferença significativa no conteúdo de chl *a* (biomassa) correspondentes a 0,211 µg.mL⁻¹,

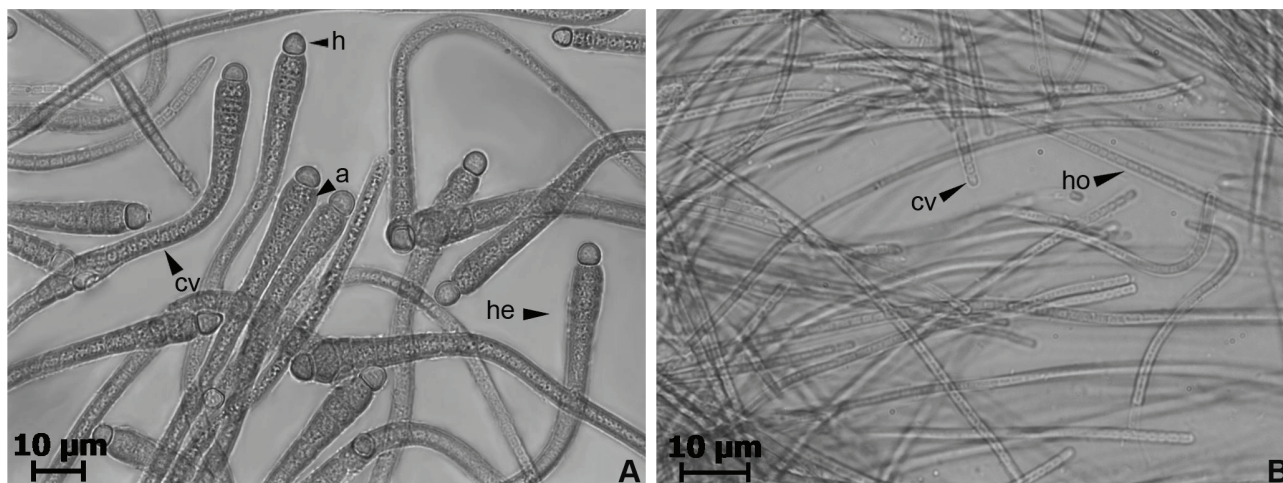


Figura 2. Isolados de *Gloeotrichia natans* (A) e *Phormidium bohneri* (B) obtidos nos biofilmes. Abreviaturas: cv, células vegetativas; h, heterócito; a, acinetos; he, filamento heterocitado; ho, filamento homocitado.

0,223 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,224 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, quando comparado ao controle, para todas as concentrações. Estatisticamente, o crescimento nesse tratamento foi considerado nulo (Fig. 3C).

Na presença de naftaleno, *P. bohneri* apresentou um ganho de 0,77 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,79 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ no conteúdo de chl *a* (biomassa), nas concentrações 0,25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente (Fig. 3D). As médias de absorvância obtidas não apresentaram diferenças significativas, segundo teste de Tukey, quando comparados ao controle. Quando *P. bohneri* foi cultivado em diesel comum, constatou-se um aumento significativo no conteúdo de chl *a* de 0,47 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,56

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, nas concentrações 0,25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. Houve ausência de crescimento na concentração de 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de diesel (Fig. 3E). Em meio AA₄, com adição de gasolina comum, foram registradas as menores taxas de crescimento de *P. bohneri*, correspondentes a 0,33 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ no conteúdo de chl *a*, para concentrações de 0,25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. Durante as primeiras 48 horas de observação, houve aumento não significativo da biomassa (conteúdo de chl *a*) que apresentou valores de 0,03 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 0,06 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, para as três concentrações empregadas. Quando foram feitas as últimas leituras (72 horas de experi-

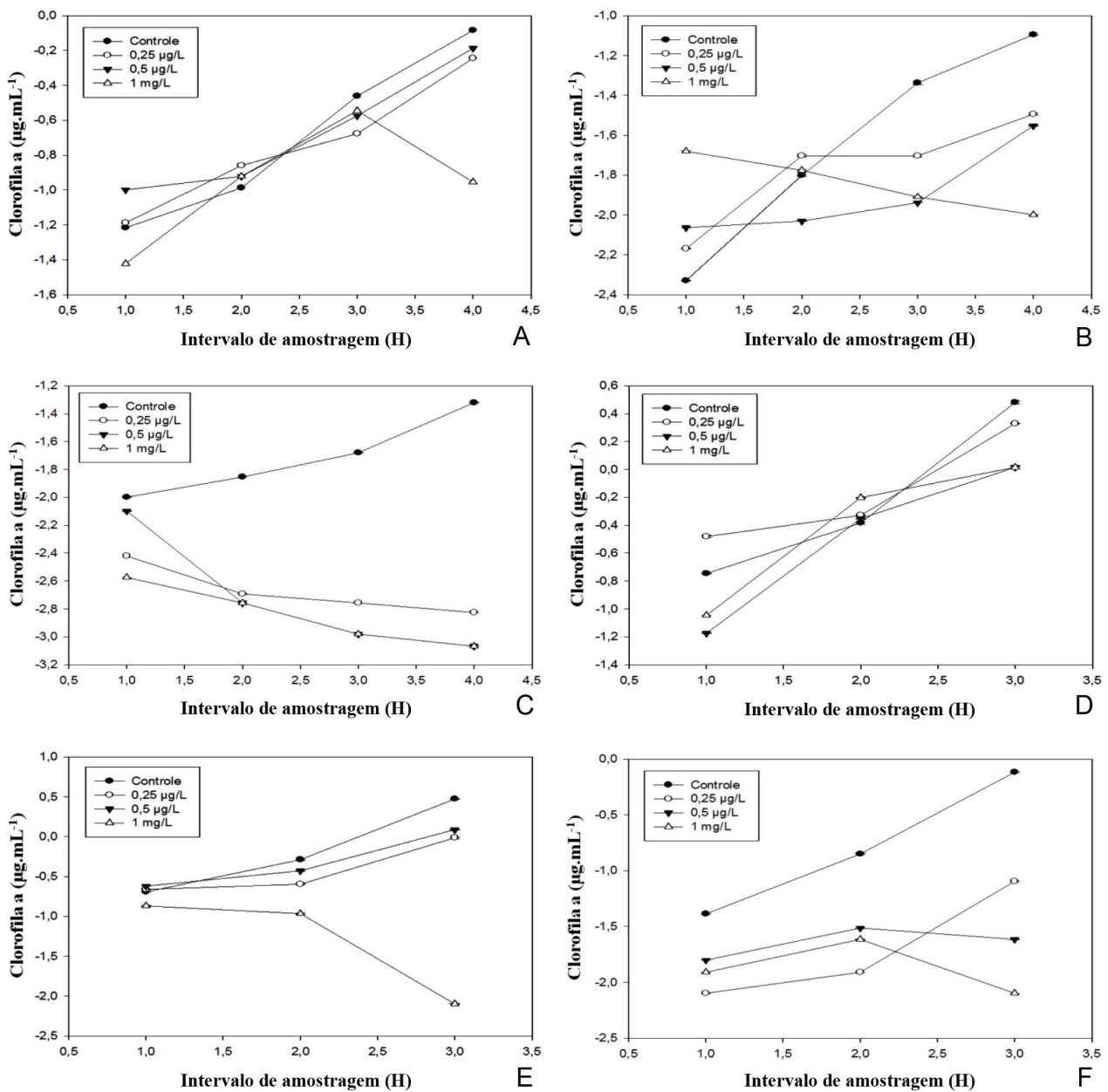


Figura 3. Conteúdo de Clorofila *a* (biomassa) em *Gloeotrichia natans* e *Phormidium bohneri* versus intervalo de amostragem (H). A-C. *Gloeotrichia natans* cultivada em naftaleno, diesel comum e gasolina comum, respectivamente. D-F. *Phormidium bohneri* cultivado na presença de naftaleno, diesel comum e gasolina comum, respectivamente.

mento) verificou-se um aumento, não significativo, de chl *a* ($0,18 \mu\text{g.mL}^{-1}$) para a concentração de $0,25 \mu\text{g.L}^{-1}$, com decréscimos de $0,03 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $0,08 \mu\text{g.mL}^{-1}$ no conteúdo de chl *a* para as concentrações de $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ e 1mg.L^{-1} (Fig. 3F).

Observações macroscópicas em culturas de *G. natans*, após 72 horas, cultivadas em meio contendo gasolina comum, nas concentrações de $0,25 \mu\text{g.L}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ e 1mg.L^{-1} , mostraram que as células apresentaram coloração amarelada. O mesmo fato ocorreu nas culturas com adição de diesel comum e naftaleno, na concentração de 1mg.L^{-1} . Culturas de *P. bohneri*, também apresentaram mudanças relevantes na coloração. As células quando expostas a 1mg.L^{-1} de diesel comum e em todas as concentrações de gasolina comum passaram da cor verde-azulado para amarela. Entretanto, quando a exposição das células ocorreu em naftaleno, não foi observado alterações na coloração celular. Alterações micromorfológicas foram acompanhadas, sob microscopia de luz nas células de *G. natans* e *P. bohneri* apenas nos

cultivos com gasolina comum ($0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ e 1mg.L^{-1}). *G. natans* foi afetada mais intensamente que *P. bohneri*. As modificações foram marcadas pelo rompimento das células do filamento mãe e o extravasamento do conteúdo para o meio de cultura. Foi constatado que, após 72 horas de cultivo, apenas a estrutura da parede celular permaneceu íntegra, entretanto as células estavam completamente vazias, sem conteúdo protoplasmático (Fig. 4).

DISCUSSÃO

A seleção de apenas dois representantes do Phylum Cyanophyta (*G. natans* e *P. bohneri*), no presente estudo com hidrocarbonetos de petróleo, demonstrou a limitada diversidade desses micro-organismos em ambientes seletivos, inóspitos, tal como ocorre nas áreas contaminadas por hidrocarbonetos de petróleo. Apesar de se obter um número reduzido de representantes das cianobactérias, foi possível selecionar e trabalhar com organismos que apresentavam características distintas (filamentos heterocitados e homocitados). Este fato permitiu avaliar

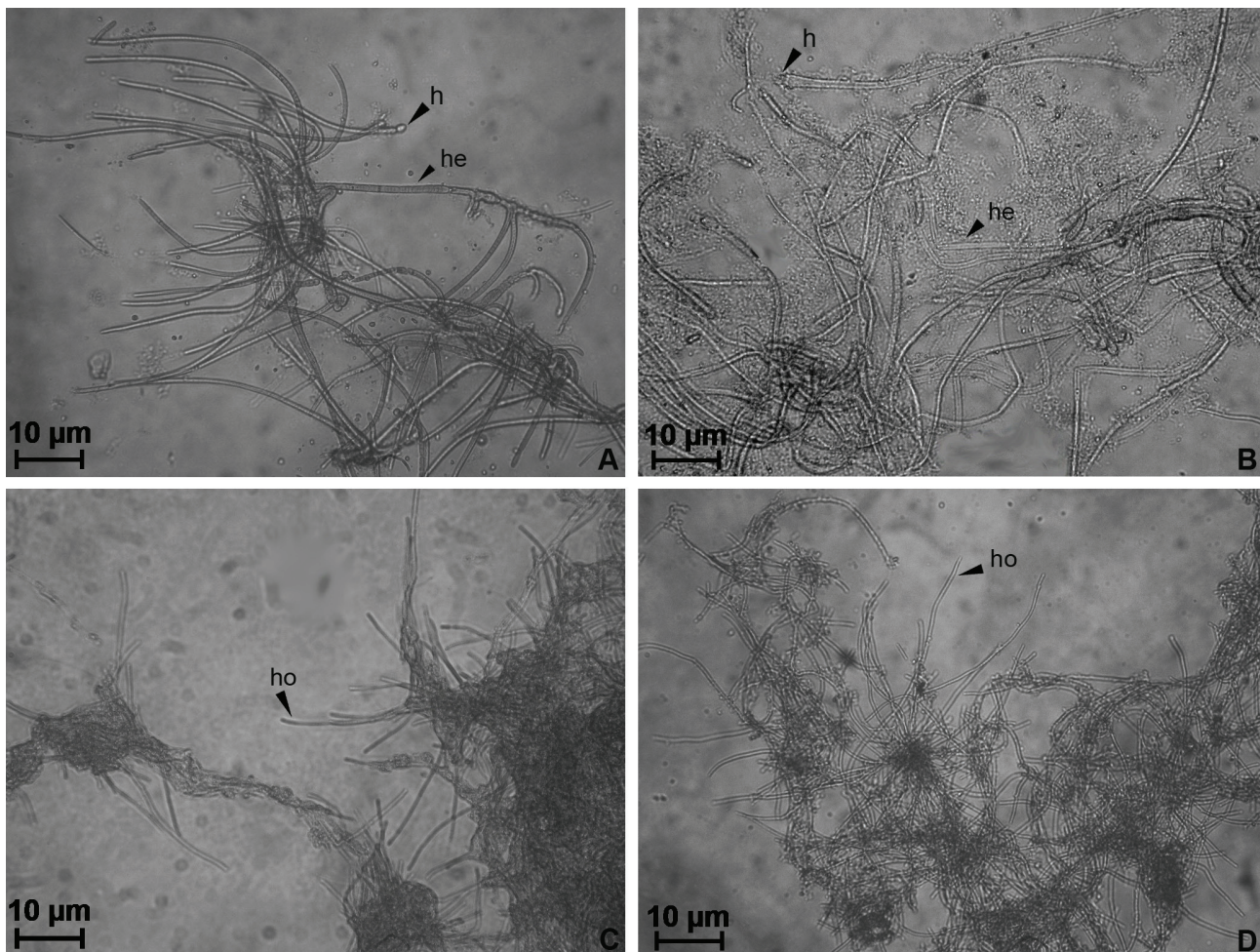


Figura 4. Filamentos de *Gloeotrichia natans* (A e B) e *Phormidium bohneri* (C e D) cultivados nos tratamentos controle e com 1mg/L de gasolina comum, respectivamente. Observação realizada após 72 horas de exposição, evidenciando, em B e D, filamentos apresentando estrutura da parede celular íntegra, porém, sem conteúdo protoplasmático. Abreviaturas: h, heterócito; he, filamento heterocitado; ho, filamento homocitado.

as diferenças nas respostas de sensibilidade e tolerância para diferentes indivíduos, frente a fontes distintas de poluentes, em condições de cultivo. Houve dificuldades técnicas no isolamento de todos os componentes do biofilme e na manutenção íntegra da estrutura dessa comunidade, em condições de laboratório.

O diesel e a gasolina comum se mostraram os poluentes mais nocivos ao crescimento das cianobactérias, quando comparado ao naftaleno. Esse fato, provavelmente está associado à composição química de cada um dos hidrocarbonetos utilizados. Tanto o diesel comum quanto a gasolina comum são formados por uma mistura de hidrocarbonetos. O primeiro é constituído de n-alcenos, iso e cicloalcenos, hidrocarbonetos aromáticos e isopropenóides (Beller *et al.* 1992). A gasolina brasileira apresenta em sua composição principalmente octanos (C₈), como também compostos monoaromáticos do grupo BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno), que possuem relativa solubilidade em água e são considerados cancerígenos para os humanos, e 20 a 25% de etanol (Cunha & Leite 2000, Queiroz 2004). Em contrapartida, o naftaleno (C₁₀H₈) é composto por apenas um tipo de hidrocarboneto aromático dicíclico formado por dois anéis benzênicos fundidos (Narro *et al.* 1992).

Desse modo, o diesel e a gasolina comum tenderiam a afetar a fluidez e a integridade da membrana celular de maneira mais efetiva, pois apresentam entre seus componentes os n-alcenos, que possuem maior solubilidade às membranas e são mais assimiláveis pelas células (Mitchell & Ji-Dong Gu 2009). O mesmo ocorre com o etanol presente na gasolina comum, que quando em contato com as células da cianobactéria, atua desestabilizando a estrutura da membrana e aumentando sua fluidez, diminuindo assim as interações entre as cadeias de ácidos graxos dos fosfolipídios, podendo levar ao seu rompimento e a liberação do conteúdo protoplasmático (Paterson *et al.* 1972, Chin & Goldstein 1977, Harris & Schroeder 1981).

A literatura relata que os componentes aromáticos de baixo peso molecular como o benzeno e naftaleno, presentes nos três poluentes utilizados, também têm se mostrado tóxicos para os micro-organismos de maneira geral. De acordo com Mitchell & Ji-Dong Gu (2009), quando foi avaliado o impacto das frações alifática, aromática e asfáltica de cinco óleos de petróleo sobre as reações que envolvem a fotossíntese e a respiração, em uma espécie de cianobactéria, constatou-se que a inibição do crescimento estava fortemente associada à fração aromática. Assim, a maior toxicidade do diesel e da gasolina comum pode estar atribuída à grande diversidade de hidrocarbonetos presentes nesses compostos, em contraste com o naftaleno.

A espécie *P. bohneri* apresentou taxas de crescimento significativas na maioria dos tratamentos, ou seja, após ter sido submetida a diferentes hidrocarbonetos. A ausência de crescimento observada para todas as concentrações de gasolina comum pode ser interpretada como

um resultado falso negativo, pois ao comparar os hidrocarbonetos presentes na composição do diesel comum e da gasolina comum, notou-se uma maior abundância de hidrocarbonetos tóxicos no diesel (Kaipper 2003). Entretanto, para o tratamento com diesel foi constatado um crescimento significativo de *P. bohneri* nas concentrações 0,25 µg.L⁻¹ e 0,5 µg.L⁻¹, respectivamente. Esse fato sugere que grande parte da ação nociva apresentada pela gasolina comum pode ter sido determinada pelo etanol presente na sua composição. O uso de gasolina pura (sem adição de etanol) para avaliar a sensibilidade/tolerância das cianobactérias não se mostrou viável, pois, geralmente, os acidentes ecológicos envolvendo a contaminação dos solos e aquíferos não ocorrem com o combustível nessa condição (Queiroz *et al.* 2004).

Gloeotrichia natans apresentou, inicialmente, taxas de crescimento positivas em relação ao naftaleno nas concentrações de 0,25 µg.L⁻¹ e 0,5 µg.L⁻¹. Porém, nos tratamentos contendo 1 mg.L⁻¹ de naftaleno e em todas as concentrações de diesel comum e gasolina comum não foi evidenciado crescimento, indicando que *G. natans* apresenta alta sensibilidade aos hidrocarbonetos (alifáticos, mono ou poliaromáticos) que compõem os poluentes testados, contrastando com o ocorrido em *P. bohneri*.

O efeito de diferentes concentrações dos derivados de hidrocarbonetos estudados nessa pesquisa (diesel comum, gasolina comum e naftaleno), o tempo de exposição e o tipo de poluente influenciaram, significativamente, as taxas de crescimento das espécies estudadas. Os dados da literatura são escassos e não mostram registros de alterações e/ou modificações morfológicas, fisiológicas e ultra-estruturais ocorridas nas células de cianobactérias expostas aos derivados de hidrocarbonetos de petróleo. Os efeitos desses poluentes sobre as células (parede celular, citoplasma e tilacóides) constituem informações relevantes, visto a importância ecológica dos biofilmes e o papel das cianobactérias como colonizadores primários nos ambientes inóspitos. Estudos com essa perspectiva devem ser incentivados com o objetivo de elucidar os mecanismos envolvidos na sensibilidade e tolerância das cianobactérias, otimizando o uso desses micro-organismos nos processos de biorremediação e/ou bioindicação.

Os resultados obtidos nesse trabalho permitem inferir que *G. natans* demonstra ter potencial para ser empregada como uma espécie bioindicadora da presença de hidrocarbonetos no ambiente. Por outro lado, o crescimento não afetado de *P. bohneri* indica que esta espécie apresenta potencialidade para estudos de biorremediação.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à FAPEMIG e à Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio durante a pesquisa.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R.M. 2000. *Systematics and ultrastructure of new and rare Chrysophytes from Colorado and Wyoming lakes*. Tese (Doutorado em Botânica). Colorado State University, United States, Colorado, 2000.
- ABED, R.M.M., SAFI, N.M.D., KÖSTER, J., DE BEER, D., EL-NAHAL, Y., RULLKÖTTER, J. & GARCIA-PICHEL, F. 2002. Microbial diversity of a heavily polluted microbial mat and its community changes following degradation of petroleum compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 1674-1683.
- ABED, R.M.M., AL-THUKAIR, A., DE BEER, D. 2005. Bacterial diversity of a cyanobacterial mat degrading petroleum compounds at elevated salinities and temperatures. *FEMS Microbiology Ecology*, 57: 290-301.
- ALLARD, A.S. & NEILSON, A.H. 1997. Bioremediation of organic waste sites: a critical review of microbiological aspects. *International Biodeterioration & Degradation*, 39: 253-285.
- ALLEN, M.B. & ARNON, D.I. 1955. Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. I – Growth and nitrogen fixation by *Anabaena cylindrica* Lemm. *Plant Physiology*, 30: 366-372.
- ALLEN, M.B. 1968. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates. *Journal of Phycology*, 4: 1-4.
- BARTH, H. 2003. The influence of cyanobacteria on oil polluted intertidal at the Saudi Arabian Gulf shores. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1245-1252.
- BELLER, H.R., GRBIC-GALIC, D. & REINHARD, M. 1992. Microbial degradation of toluene under sulfate-reducing conditions and the influence of iron on the process. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 786-793.
- CHAILLAN, F., GUGGER, M., SALIOT, A., COUTÉ, A. & OUDOT, J. 2006. Role of cyanobacteria in the biodegradation of crude oil by a tropical cyanobacterial mat. *Chemosphere*, 62: 1574-1582.
- CHAVAN, A. & MUKHERJI, S. 2008. Treatment of hydrocarbon-rich wastewater using oil degrading bacteria and phototrophic microorganisms in rotating biological contactor: Effect of N:P ratio. *Journal of Hazardous Materials*, 154: 63-72.
- CHIN, J.H. & GOLDSTEIN, D.B. 1977. Ethanol on the fluidity of Spin-Labeled erythrocyte and brain membranes. *Molecular Pharmacology*, 13: 435-441.
- CORRÊA, D. M. 2007. *Potencial de cianobactérias na bioindicação e biodegradação de ambientes contaminados por naftaleno no Brasil e na Antártica*. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- CRONE T.J. & TOLSTOY, M. 2010. Magnitude of the 2010 Gulf of Mexico oil leak. *Science*, 330(6004): 634.
- CUNHA, C.D. & LEITE, S.G.F. 2000. Gasoline biodegradation in different soil microcosms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: 45-49.
- HARRIS, R.A. & SCHROEDER, F. 1981. Ethanol and the Physical Properties of Brain Membranes. *Molecular Pharmacology*, 20: 128-137.
- HÖPNER, T., YOUSEF, M., BERTHE-CORTI, L., FELZMANN, H., STRUCK, H. & AL-THUKAIR, A. 1996. Cyanobacterial mats on oil-polluted sediments- start of a promising self-remediation process? In: KRUPP, F. ABUZINADA A. H. & NADER, I. (Eds.) *A Marine Wildlife Sanctuary for the Arabian Gulf*. Frankfurt: Riyadh and Senckenberg Research Institute/NCWCD. p. 85-95.
- KAIPPER, B.I.A. 2003. *Influência do etanol na solubilidade de hidrocarbonetos aromáticos em aquíferos contaminados por óleo diesel*. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- KENNICUTT, M.C. & SWEET, S.T. 1992. Hydrocarbon contamination on the Antarctic Peninsula III. The Bahia Paraiso – two years after the spill. *Marine Pollution Bulletin*, 24: 303-306.
- KOMÁREK, J. 1992. The on-line database of cyanobacterial genera. Disponível em: <http://www.cyanodb.cz>. Acesso em: 13 de fevereiro de 2011.
- LEAHY, J.G. & COLWELL, R.R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Reviews*, 54: 305-315.
- MCKNNEY & MCKNNEY, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *Journal Biological Chemistry*, 140: 315-322.
- MITCHELL, R. & JI-DONG G. 2009. *Environmental Microbiology*. 2nd ed. New Jersey: Wiley-Blackwell. 389 p.
- NARRO, M.L., CERNIGLIA, C.E., VAN BAALEN, C. & GIBSON, D.T. 1992. Metabolism of phenanthrene by the marine cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 1351-1359.
- PATERSON, S.J., BUTLER, K.W., HUANG, P., LABELLE, J., SMITH, I.C., SCHNEIDER, H. 1972. The effects of alcohols on lipid bilayers: A spin label study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 266: 597-602.
- PONTES, M.C.F. 1988. *Contribuição de nitrogênio biologicamente fixado por cianobactérias de vida livre em cultura de arroz irrigado*. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1988.
- QUEIROZ, L.R. 2004. *Síntese e estudos da eficiência antioxidante de novos aditivos aplicados a combustíveis*. Monografia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.
- RADWAN, S.S., AL-AAWADI, H.A. & KHANAFER, M. 2001. Effects of lipids on n-alkane attenuation in media supporting oil-utilizing microorganisms from the oil Arabian Gulf coasts. *Microbiology Letters*, 198: 99-103.
- RAGHUKUMAR, C., VIPPARTY, V., DAVID, J.J. & CHANDRAMOHAN, D. 2001. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57: 433-436.
- SOUZA, M.C.M., MACRAE, A., VOLPON, A.G.T., FERREIRA, P.S. & HAGLER, L.C. H. M. 2006. Chemical and microbiological characterization of mangrove sediments after a large oil-spill in Guanabara Bay - RJ – Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 262-266.
- VAN HAMME, J.D., SINGH, A. & WARD, O.P. 2003. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67: 503-549.