

DETECÇÃO DE BACTÉRIAS REDUTORAS DE Fe (III), EM MANGUE DA BACIA PETROLÍFERA POTIGUAR COM POTENCIAL BIODEGRADADOR DE PETRÓLEO

Cataline. L. V. Silva¹ (UFRN), Amanda L. S. Silva^{1,2} (UFRN), Sílvia R. B. de Medeiros¹ (UFRN), Lucymara F. A. Lima¹ (UFRN), Carlos A. G. Blaha^{1,3} (UFRN)

¹Laboratório de Biologia Molecular e Genômica, Depto. de Biologia Celular e Genética – Universidade Federal do Rio Grande do Norte 59072-917, ² Mestranda do PPG em Genética e Biologia Molecular
³blaha@biocomp.ufrn.br

O óxido de Fe (III) insolúvel é um dos metais mais abundantes da crosta terrestre e pode ser encontrado em vários ecossistemas onde o óleo no estado bruto é abundante. Certos grupos microbianos são capazes de reduzir o Fe (III), utilizando-o como aceptor de elétrons e o óleo bruto pode então ser utilizado como fonte de carbono. O envolvimento de vários grupos de microrganismos na degradação do óleo bruto resulta em alterações na viscosidade, acidez e densidade do óleo, o que implica em elevados custos para a indústria petrolífera. Ao mesmo tempo, a pesquisa para o acesso à biodiversidade microbiana autóctone na Bacia Petrolífera Potiguar (BPP) deve acentuar a descoberta de novas vias metabólicas para a pesquisa e biotecnologia industrial e ajudar nas fases upstream/downstream da indústria petrolífera. O presente estudo tem o propósito de isolar e identificar, através dos biomarcadores *omcB* e *16S rDNA*, bactérias redutoras de Fe (III) com capacidade para biodegradação de óleo bruto, presentes nos solos de Macau-RN e em sedimentos de mangue em Diogo Lopes-RN, ambos localizados no interior da BPP, e no solo de Mata Atlântica da Reserva Florestal Horto de Dois Irmãos-PE. Nenhuma das localidades estudadas possui qualquer evento prévio de contaminação por óleo. Foram utilizadas ferramentas de bioinformática para a construção de *primers* (*omcB* e *16S rDNA*) para PCR, e ensaios microbiológicos de plaqueamento para cultivo seletivo. Foram isoladas 240 bactérias redutoras de Fe (III), sendo 112 de Diogo Lopes-RN e 128 da Mata Atlântica, na Reserva Horta de Dois Irmãos-PE. Esses isolados foram selecionados novamente para as capacidades de crescimento em meio mínimo contendo óleo bruto como fonte de carbono e apenas 11 linhagens aeróbicas foram selecionadas de Diogo Lopes-RN. A caracterização molecular por PCR utilizando os genes *16S rDNA* e o gene metabólico *omcB* para as linhagens petrodegradadoras redutoras de Fe (III) selecionadas sugerem a presença desses microrganismos nos sedimentos de mangue provenientes da BPP. Este é o primeiro relato sobre a microbiologia do petróleo na BPP e deve auxiliar a indústria petrolífera para a melhor administração de investimentos e políticas de responsabilidade ambiental e social.

Bactérias Redutoras de Fe (III), petróleo, biodegradação

1. INTRODUÇÃO

A procura por microrganismos na natureza e a elucidação de suas atividades metabólicas funcionais em ecossistemas é fundamental para o interesse tecnológico em explorar a biodiversidade. Os avanços sobre o entendimento do metabolismo microbiano que ocorrem em ambientes contaminados com petróleo beneficiam grandemente a indústria de óleo e também fornecem subsídios para a escolha da estratégia para remediar locais que têm chances de serem acidentados com produtos petrolíferos (Magot *et al.*, 2000). Existe uma multiplicidade de pesquisas relacionadas à caracterização da comunidade microbiológica em ambientes com petróleo em diversos países (revisado por Röling *et al.*, 2003). No caso de lugares nunca antes contaminados, poucos são os estudos que realizam buscas por microrganismos com tal potencial biotecnológico, embora possam ser encontrados. No Brasil, Evans *et al.* (2004) descrevem comunidades microbianas próprias da Reserva de Mata Atlântica do Poço das Antas-RJ, porém se restringe às bactérias do gênero *Pseudomonas*. Embora Santos (2006) e Pereira (2007) tenham prospectado microrganismos nativos relacionados com petróleo na BPP, seus estudos não incluem microrganismos redutores de metais.

Diante da importância de conhecer a diversidade de microrganismos capazes de sobreviver em ambientes contaminados com petróleo e devido à escassez de informações dos microrganismos nativos nos solos de ambientes que não tiveram nenhum tipo de exposição ao poluente, o presente estudo visa a detecção de microrganismos redutores de Fe (III) (MRFe) através de análises moleculares e microbiológicas, a partir de amostras de solo da Reserva Florestal Horta de Dois Irmãos (Recife-PE) e da Área de Proteção Ambiental (APA) Diogo Lopes (Macau-RN), locais sem prévio histórico de contaminação com petróleo. Este é um trabalho pioneiro na Bacia Potiguar, a mais importante produtora de petróleo *on shore* do Brasil.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Impulsionada pela necessidade de fabricar produtos de consumo, como benzol, toluol e borracha, a indústria petroquímica desenvolveu-se a partir da II Guerra Mundial e desde então, as técnicas de elaboração do petróleo aprimoraram-se rapidamente. A refinação do petróleo visa, principalmente, a preparar os produtos empregados como combustível, iluminante e lubrificante, enquanto a petroquímica utiliza total ou parcialmente matérias-primas derivadas do petróleo ou dos gases naturais para fabricar matérias plásticas, fertilizantes, solventes etc (Abreu, 1973). No entanto, o conhecimento sobre ecologia microbiana de ambientes nativos relacionado com essa indústria é pouco conhecido, porém atualmente relevante quanto a questões de desenvolvimento sustentável e na bioprospecção de microrganismos que possuam genes de interesse industrial (Newman e Banfield, 2002). Para isso, o isolamento de microrganismos geralmente é realizado em ambientes que favorecem o tipo de metabolismo que se deseja estudar. Assim, microrganismos degradadores de hidrocarbonetos são freqüentemente isolados de ambientes nos quais essas fontes de carbono estão presentes, tanto de maneira natural (reservas petrolíferas), como introduzidas pelo homem (casos de contaminação) (Greene *et al.*, 2000).

Como o atual conhecimento sobre a capacidade de degradação do petróleo por bactérias é limitado àquelas que foram cultivadas em laboratório, o potencial microbiológico certamente ainda está subestimado. Entretanto, a capacidade dissimilatória da redução de Fe (III) já foi descrita em microrganismos mesofílicos, termofílicos e hipertermofílicos em ambientes que contenham petróleo (Magot *et al.*, 2000, van Hamme *et al.*, 2003).

A biota do solo é essencial à manutenção dos ecossistemas e o estudo da sua diversidade compreende uma área de enorme abrangência. O conhecimento atual representa apenas uma pequena parcela do número real de espécies de microrganismos e do potencial delas. Pouco é conhecido sobre a diversidade microbiana em reservas petrolíferas, mas supõe-se que as estruturas das comunidades sejam relativamente simples nesses ambientes inóspitos, devido à limitação do número de aceptores/doadores de elétrons, pH extremo e concentrações de metais tóxicos (Newman e Banfield, 2002). O ferro, muito abundante no subsolo, é potencialmente o maior aceptor de elétrons no local. Assim, a redução desse metal deve ser uma característica comum compartilhada por uma grande quantidade dos microrganismos presentes (Röling *et al.*, 2003).

Geobacter metallireducens é uma das bactérias mais estudadas, pois foi um dos primeiros microrganismos que mostrou capacidade de oxidar completamente compostos orgânicos a dióxido de carbono, utilizando óxido de Fe (III) como aceptor de elétrons (Lloyd, 2003). *Shewanella oneidensis* MR-1, também é considerada modelo de estudo. Essa bactéria é anaeróbica facultativa encontrada em solos, sedimentos e meios aquosos (doces e marinhos), com capacidade para conservar energia para o crescimento utilizando oxigênio ou Fe (III) como aceptor final de elétrons (Lower *et al.*, 2001). Em alguns ambientes aquáticos, sedimentos e solos são ricos em manganês e óxidos de ferro, e *S. oneidensis* pode contribuir para a solubilização redutiva dos metais presentes. Os citocromos tipo-C, nessa bactéria, são sugeridos como componentes importantes do processo (Myers e Myers, 2003).

Recentemente, Lovley (2003) e Lloyd *et al.* (2003) revisaram a potencialidade desses MRFe quanto a aplicações biotecnológicas, como por exemplo a biorremediação de metais em diversos ambientes. O estudo apresentado aqui é pioneiro e visa o isolamento e identificação microbiana de MRFe em ambientes naturais relacionados com a indústria de Petróleo e Gás, o qual permitirá avaliar e estabelecer métodos para a definição de padrões *background* da biodiversidade microbiana nativa na Bacia Petrolífera Potiguar.

3. METODOLOGIA

3.1. Análises *in silico*

Os estudos *in silico* foram realizados a partir da obtenção das seqüências dos genes *omcA*, *omcB* e *mtrB* pertencentes a *Shewanella oneidensis* MR-1. Seqüências similares foram buscadas nas bases de dados do GenBank/NCBI (National Center for Biotechnology Information), que incluem seqüências obtidas de metagenomas ambientais, através do pacote BLAST. Em seguida, os alinhamentos múltiplos foram realizados utilizando o programa Clustal-W (Thompson *et al.*, 1994) e visualizados com BIOEDIT (Hall, 1999).

3.2. Amostras de Solo

Foram utilizadas amostras de solo da Reserva Florestal Horto de Dois Irmãos (08°03'00'' de Latitude Sul e 34°59'17'' de Longitude Oeste, Mata Atlântica), localizada em Recife-PE, e da APA Diogo Lopes (05°05'39'' de Latitude Sul e 36°21'33'' de Longitude Oeste, Mangue), localizada em Macau-RN. Nenhum dos dois locais possui registro de contaminação prévia com petróleo. Para cada localidade, retirou-se 40 g de solo e distribuiu-se igualmente em quatro tubos Falcon. Em seguida, realizou-se a lavagem da amostra: em cada tubo adicionou-se 10 mL de tampão PBS. Após centrifugação (30' a 180 rpm e 3' a 1000 rpm), recuperou-se o

sobrenadante, o qual foi submetido a outra centrifugação (10' a 4000 g). Nessa etapa, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* recuperado e novamente diluído em tampão PBS (10^{-1} e 10^{-2}), o qual foi mantido a 4°C até o isolamento dos microrganismos.

3.3. Isolamento de Microrganismos Redutores de Fe (III)

As diluições das amostras de solo foram inoculadas em placas de Petri com meio LB, o qual é composto de (g/L): 10 peptona, 10 NaCl, 5 extrato de levedura e 20 ágar. A esse meio de cultura adicionou-se 10 mM de citrato férrico. Após incubação de 7 dias a 37°C, em condições de crescimento aeróbica e anaeróbica, as placas foram analisadas visualmente para a observação das colônias. Os microrganismos das amostras de solo capazes de crescer tendo o citrato férrico como aceptor de elétrons foram então inoculados nos meios enriquecidos LB e LB-citrato. Como controle, utilizou-se o meio mínimo M9, que possui na sua composição (g/L): 0,24 MgSO₄, 0,4 NH₄Cl, 0,5 NaH₂PO₄, 0,21 K₂HPO₄ e 20 ágar, suplementado com 10 mM de citrato férrico. Os isolados foram purificados e mantidos a -80°C em glicerol 87%.

3.4. Crescimento em Petróleo

Os isolados obtidos em meio LB-citrato foram submetidos a uma avaliação qualitativa sobre o potencial de crescer em meio com petróleo. Para isso, foram cultivados tendo o petróleo (7,6%) como a única fonte de carbono em meio mínimo M2, composto de (g/L): 7 NaNO₃, 1 K₂HPO₄, 0,5 KH₂PO₄, 0,10 KCl, 0,5 MgSO₄.7H₂O, 0,01 CaCl₂, 4,7 FeSO₄.7H₂O. Para a esterilização do petróleo, realizou-se pasteurização (ciclos alternados de fervura e resfriamento). As culturas foram incubadas com agitação de 120 rpm (20 dias, 37°C, escuro) para a análise do crescimento.

3.5. Construção de oligonucleotídeos (*primers*)

Baseados nos dados obtidos nas análises *in silico*, foram escolhidos oligonucleotídeos (*primers*) específicos para o gene *omcB* e sintetizados por Integrated DNA Technologies. Para as análises utilizando o gene *16S rRNA* como biomarcador molecular, foram utilizados os protocolos e *primers* desenvolvidos por Santos (2006).

4. RESULTADOS

No banco de dados construído, específico para bactérias redutoras de Fe (III), foram armazenadas todas as sequências disponíveis no GenBank. As informações contidas nesse banco de dados referem-se às proteínas OmcA, OmcB e MtrB. Nessa análise, foi possível observar que existem poucos microrganismos registrados como possuidores das três proteínas estudadas: *Shewanella*, *Vibrio*, *Geobacter*, *Aeromonas*, *Rhodospirillum rubrum* e *Solibacter* (Tabela 1). Restringindo-se a pesquisa apenas para as amostras ambientais depositadas no NCBI, obtiveram-se apenas informações referentes ao metagenoma de ambiente marinho.

Tabela 1. Número de ocorrência de informações de gêneros bacterianos e amostras ambientais, em relação à presença dos genes *omcA*, *omcB* e *mtrB*, depositadas no banco de dados do NCBI, utilizando o programa Blastp.

Gêneros	omcA	omcB	mtrB
<i>Shewanella</i>	77	84	40
<i>Anaeromyxobacter</i>	5	1	-
<i>Rhodopseudomonas</i>	-	-	4
<i>Vibrio</i>	4	4	4
<i>Halorhodospira</i>	1	-	1
<i>Dechloromonas</i>	-	-	1
<i>Magnetospirillum</i>	-	-	1
<i>Geobacter</i>	4	4	1
<i>Aeromonas</i>	1	1	1
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	4	2	1
<i>Lactobacillus</i>	-	-	1
<i>Caulobacter</i>	-	-	1
<i>Burkholderia</i>	-	-	1
<i>Chlorobium</i>	-	-	1
<i>Solibacter</i>	4	4	1
total	100	100	59
Amostras Ambientais	omcA	omcB	mtrB
Metagenoma marinho	50	47	25

A análise dos domínios funcionais de OmcA e OmcB no banco de proteínas INTERPRO mostrou que suas seqüências possuem domínios funcionais e sítios heme de ligação, os quais estão relacionados com proteínas da família dos citocromos. Sabe-se que componentes dessa família relacionam-se a atividades de transporte de elétrons envolvidos na redução de metais (Myers e Myers, 2003; Low *et al.*, 2001). Entretanto, o domínio funcional de MtrB foi relacionado às porinas nas regiões conservadas. Essa seqüência, portanto, é pouco discriminatória na procura de organismos redutores de Fe (III). Os alinhamentos múltiplos realizados no programa Clustal-W dos genes e proteínas envolvidos no processo de redução do Fe (III) revelaram que OmcB possui regiões de melhor conservação entre as seqüências, e por isso essa foi escolhida para a construção de *primers* específicos.

A redução do Fe (III) *in vitro*, por microrganismos, faz com que o metal precipite e escureça o meio, formando um halo preto ao redor da colônia bem característico (Lowe, 2000; Slobodkin *et al.*, 1999). No presente estudo, foi observado o crescimento de algumas colônias que não formavam esse precipitado no meio contendo citrato férrico, porém a pigmentação de tais colônias sempre era mais escura nesse meio do que o cultivo no meio LB. Esse fato relaciona-se aos dois modelos propostos por Lloyd (2003) para a redução do Fe (III): No primeiro modelo, a bactéria necessitaria de um contato direto de sua membrana externa com a superfície do metal insolúvel (nesse caso, a própria colônia possuiria uma tonalidade mais escura) e no segundo, a redução de metais ocorreria sem esse contato físico – a redução seria através de moléculas transportadoras (intermediadoras) de elétrons (e assim, haveria a formação do halo preto). As colônias provenientes da Reserva Florestal Horto de Dois Irmãos apresentaram tanto colônias com formação de precipitado preto quanto colônias que não formavam precipitados (Figura 1). Já nas amostras provenientes de Diogo Lopes, nenhuma colônia apresentou desenvolvimento do precipitado.

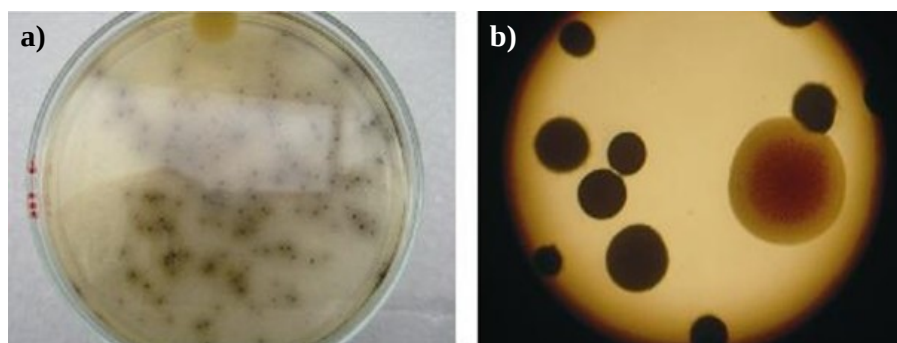


Figura 1. Isolados provenientes da Reserva Florestal Horto dos Dois Irmãos (Recife-PE). a) Microrganismos em meio LB – citrato b) Detalhe da foto a, evidenciando a diferença de coloração das colônias formadoras de precipitado preto com colônia não formadora (10X).

As duas localidades avaliadas possuem microrganismos que são capazes de sobreviver em condições de aerobiose e também em condições de anaerobiose. Entretanto, a capacidade de crescer facultativamente em anaerobiose foi uma característica marcante dos microrganismos de Diogo Lopes (Figura 2).

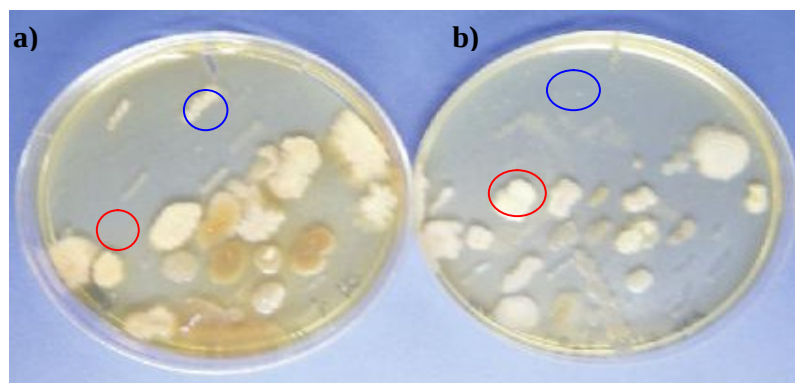


Figura 2. Isolados provenientes da APA Diogo Lopes (Macau-RN), cultivados em meio LB-citrato. a) Microrganismos em condições de aerobiose. b) Microrganismos em condições de anaerobiose. O círculo azul destaca um isolado aeróbio restrito, e o círculo vermelho destaca um isolado que cresce na ausência de oxigênio.

Alguns dos isolados da APA Diogo Lopes (Macau-RN) também conseguiram crescer em meio mínimo, utilizando o citrato férrico como fonte de carbono na presença de oxigênio (Figura 3a). Os dados quantitativos referentes a esse experimento encontram-se nas Figuras 3 e 4.

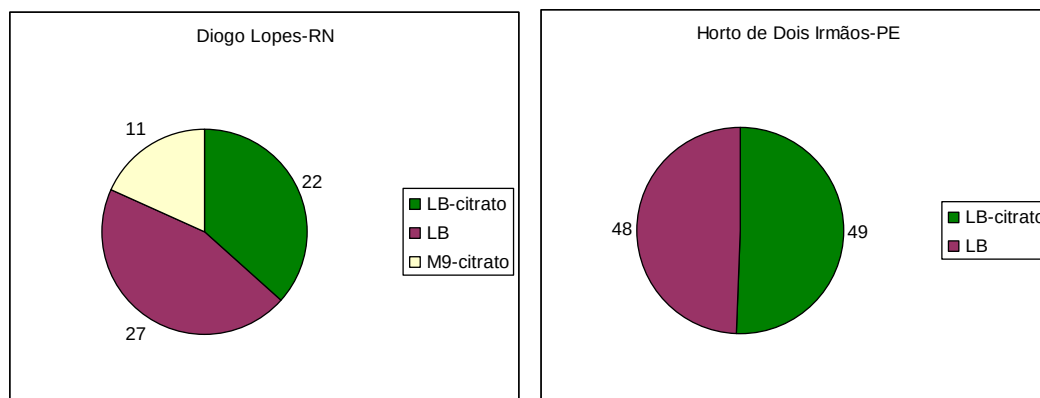


Figura 3. Número de colônias dos isolados obtidos em condições de aerobiose nos meios LB-citrato, LB e M9-citrato, após 10 dias (37°C, escuro). Na amostra proveniente da Reserva Florestal Horto de Dois Irmãos não houve formação de colônias no meio M9-citrato.

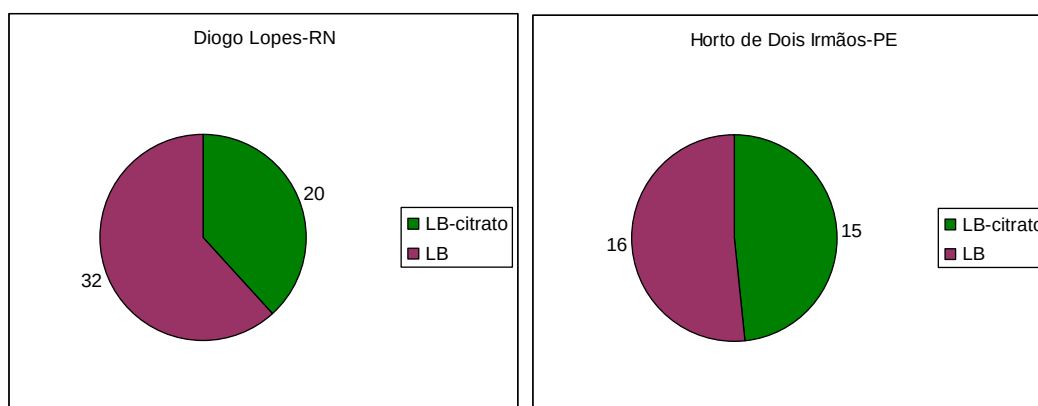


Figura 3. Número de colônias dos isolados obtidos em condições de anaerobiose nos meios LB-citrato e LB, após 10 dias (37°C, escuro). Nas amostras provenientes das duas localidades, não houve formação de colônias no meio M9-citrato.

Em relação ao tempo de crescimento avaliado, observou-se que as colônias que obtiveram crescimento no meio com LB-citrato apresentaram desenvolvimento retardado em relação ao meio LB, fazendo-se necessário tempo de cultivo de pelo menos 10 dias. Observação semelhante foi descrita por DiChristina (1994) analisando isolados de *Shewanella*. Essa situação já era esperada, visto que o citrato férrico, na concentração fornecida, é um fator limitante ao crescimento microbiano. No caso de bactérias, outros fatores também dificultam o crescimento em cultura, tais como: perda de simbiontes necessários, nutrientes ou superfícies, excesso de compostos inibitórios, combinações incorretas de temperatura, pressão ou composição de gás atmosférico, acúmulo de resíduos tóxicos provenientes do próprio metabolismo bacteriano e, intrinsecamente, taxa de crescimento lenta ou rápida dispersão das colônias (Handelsman, 2004).

O petróleo é essencialmente uma mistura de hidrocarbonetos líquidos contendo em dissolução pequenas quantidades de hidrocarbonetos gasosos e sólidos. As características físico-químicas do óleo não são favoráveis ao crescimento da maioria dos seres vivos, já que possui presença de metais tóxicos e limitação do número de aceptores/doadores de elétrons (Magot *et al.*, 2000; Newman e Banfield, 2002). Todavia, são documentados alguns microrganismos que podem tolerar essas condições, e inclusive serem próprios daquele ambiente.

No presente trabalho, utilizando petróleo como única fonte de carbono, foi possível verificar o crescimento de 11 isolados. As futuras avaliações a respeito da composição de hidrocarbonetos totais (THC) e Saturados, Aromáticos, Resinas, e Asfaltenos (SARA) do petróleo utilizado permitirão inferir sobre que constituintes foram efetivamente utilizados por esses microrganismos, e inclusive a quantidade de Fe (III) utilizado comoceptor de elétrons. Sabe-se que, em geral, as bactérias e leveduras apresentam capacidade decrescente de degradação de

acordo com o aumento da cadeia de carbono, ao passo que os fungos não exibem degradação preferencial de tamanho de molécula (Götz e Brune, 1992).

5. CONCLUSÃO

O banco de dados construído permitiu a seleção do gene *omcB* como marcador para microrganismos redutores de Fe (III). Comparando-se a Reserva Florestal Horto de Dois Irmãos-PE com a APA Diogo Lopes, a primeira possuiu a maior diversidade para esse grupo de microrganismos. Adicionalmente, alguns isolados provenientes de Diogo Lopes-RN puderam crescer no meio mínimo M9, contendo citrato férrico como fonte de carbono. Onze microrganismos obtidos foram capazes de reduzir Fe (III) e crescer na presença dos diversos hidrocarbonetos constituintes do petróleo. Estas pesquisas sugerem que as bactérias redutoras de Fe (III) e degradadoras de hidrocarbonetos nativas de ambientes virgens podem ser úteis em eventuais experimentos de biorremediação. Os *primers omcB* e 16S rDNA serão utilizados para a identificação das bactérias redutoras de Fe (III) isoladas. Este é um trabalho pioneiro na Bacia Petrolífera Potiguar sobre biocorrosão e biodegradação de hidrocarbonetos, utilizando-se microrganismos provenientes de ambientes que não foram contaminados. Os resultados sugerem a presença de biocatalisadores relacionados à indústria de petróleo e gás.

6. AGRADECIMENTOS

Ao CT-Petro e ao CNPq pelo auxílio financeiro na realização deste trabalho.

7. REFERÊNCIAS

- ABREU, S.F. In: **Recursos Minerais do Brasil**. 2ª. ed. São Paulo, Edgar Blücher, 1973. p.243.
- DiCHRISTINA, T.J.; DeLONG, E.F. Isolation of anaerobic respiratory mutants of *Shewanella putrefaciens* and genetic analysis of mutants deficient in anaerobic growth on Fe³⁺. **Journal of Bacteriology**, v.176, n.5, p.1468–1474, março 1994.
- EVANS, F.F.; ROSADO, A.S.; SEBASTIAN, G.V.; CASELLA, R.; MACHADO, P.L.O.A. HOLMSTRÖM, C.; KJELLEBERG, S.; Van ELSAS, J.D. e SELDIN, L. Impact of oil contamination and biostimulation on the diversity of indigenous bacterial communities in soil microcosms. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 49, p.295-305, maio 2004.
- GREENE, E.A.; KAY, J.G.; JABER, K.; STEHMEIER, L.G. e VOORDOUW, G. Composition of Soil Microbial Communities Enriched on a Mixture of Aromatic Hydrocarbons. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.12, p.5282–5289, dezembro 2000.
- GÖTZ, F. e BRUNE, K.A. Degradation of Lipids by Bacterial Lipases. In: **Microbial Degradation of Natural Products**. 1ª. ed. New York: Weinheim, 1992. p.244-266.
- HANDELSMAN, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. **Microbiological Molecular Biology Reviews**, v.68, n.4, p.669-685, dezembro 2004.
- HALL, T.A. BioEdit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.
- JENNINGS, E.M. e TANNER, R.S. 2000. Biosurfactant - Producing Bacteria Found in Contaminated and Uncontaminated Soils. In: Conference on Hazardous Waste Research, 2000. **Proceedings of the CHWR**, v.1, p.299-306.
- LOWE, K.L.; DiCHRISTINA, T.J.; ROYCHOUDHURY, A.N.; Van CAPPELLEN, P. Microbiological and Geochemical Characterization of Microbial Fe (III) Reduction in Salt Marsh Sediments. **Geomicrobiology Journal**, v.17, p.163–178, abril 2000.
- LOWER, S.K.; Hochella Jr., M.F.; Beveridge, T. J. Bacterial Recognition of Mineral Surfaces: Nanoscale Interactions Between *Shewanella* and α -FeOOH, **Science**, Associação Americana para o Avanço da Ciência, v. 292. n.5520, pp. 1360-1363, maio 2001.
- LLOYD, J. J. Microbial reduction of metals and radionuclides. **FEMS Microbiology Reviews**, Blackwell, v.27, p.411-425, abril 2003.
- LLOYD JR, LOVLEY DR, MACASKIE LE. Biotechnological application of metal-reducing microorganisms. **Advances in Applied Microbiology**. v.53, p.85-128, 2003.
- LOVLEY DR. Cleaning up with genomics: applying molecular biology to bioremediation. **Nature Reviews - Microbiology**. v.1, n.1, p.65-44, outubro 2003.
- MAGOT, M.; OLLIVIER, B.; PATEL, B. K.C. Microbiology of petroleum reservoirs. **Antonie van Leeuwenhoek**, Reino dos Países Baixos: Kluwer Academic, v.77, p.103–116, fevereiro 2000.
- MYERS, C.R.; MYERS, J.M. Cell surface exposure of outer membrane cytochromes of *Shewanella oneidensis* MR-1. **Letters in Applied Microbiology**, Sociedade de Microbiologia Aplicada, v. 37, p. 254-258, 2003.

- NEWMAN, D.K. E BANFIELD, J.F. Geomicrobiology: how molecular-scale interactions underpin biogeochemical systems. **Science**. Associação Americana para o Avanço da Ciência, v 296, p. 1071-1077, maio 2002.
- PEREIRA, M. S. **Estudos *in silico* da proteína AlkB e prospecção de bactérias alcanotróficas em solos da bacia petrolífera potiguar**. 1ªed. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2007. 70p.
- RÖLING, F. M; HEAD, M. I; LATER, R.S. The microbiology and hydrocarbon degradation in subsurface petroleum reservoirs: Perspectives and prospects. **Elsevier**, v.154, n.5, p.1-8, junho 2003.
- SANTOS, I.L.V.L. **Estudo de Populações Microbianas em Solos Contaminados por Petróleo**. 1ªed. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2006. 59 p.
- SLOBODKIN, A.I.; JEANTHON, C.; L'HARIDON, S.; NAZINA, T.; MIROSHNICHENKO, M.; BONCH-OSMOLOVSKAYA, E. Dissimilatory reduction of Fe (III) by thermophilic Bacteria and Archaea in deep subsurface petroleum reservoirs of Western Siberia. **Current microbiology**, v. 39, n.2, p.99-102, agosto 1999.
- THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v.22, n.22, p.4673-4680, novembro 1994.
- VAN HAMME, J. D.; SINGH, A.; WARD, O. P. Recent advances in petroleum microbiology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.67, n.4, p.503-549, dezembro 2003.

DETECTION OF FE (III) REDUCING BACTERIA IN MANGROVE OF POTIGUAR PETROLIFEROUS BASIN WITH PETROLEUM BIODEGRADING POTENTIAL

Insoluble Fe (III) oxide is one of the most abundant metals in the Earth's crust and it's found in several ecosystems where the crude oil is abundant. Certain microbial groups can reduce Fe (III) as electrons acceptor and the crude oil can be used as carbon source. The involvement of several groups of microorganisms on crude oil biodegradation results in alterations in viscosity, acidity and density that imply in high costs to petroleum industry. And at the same time, the research for access to indigenous microbial biodiversity in the Potiguar Petroliferous Basin (PPB) may be enhance to discover new metabolic pathways for research and industry biotechnology and help to upstream/downstream phases of petroleum industry. The present study has for purpose to isolate and identify, through the molecular biomarkers *omcB* and 16S rDNA, Fe (III) reducing bacteria with capabilities for crude oil biodegradation, present in soils from Macau-RN and mangrove sediments from Diogo Lopes-RN both located inner BPP and soil of Atlantic forest in the Horto Dois Irmãos Reserve area/PE, all locations without any event of oil contamination. We use bioinformatics tools for the construction of two primers (16S and *omcB*) for PCR and microbial assays with selective culture plates to isolate 240 Fe (III) reducing bacteria. 112 from Diogo Lopes-RN and 128 from Atlantic forest in the Horto Dois Irmãos Reserve area/PE. These isolates were re-screened by the capabilities for growth on mineral broth containing crude oil as carbon source and 11 aerobic strains were selected from Diogo Lopes-RN only. The molecular screening by PCR using genes rDNA 16S and metabolic gene *omcB* with selected strains petrodegraders Fe (III) reducing bacteria, suggest the presence in natural environments located in PPB. This is the first report of petrodegraders Fe (III) reducing bacteria indigenous in mangrove sediments from PPB. The knowledge about the petroleum microbiology in the PPB may help to petroleum industry for better administration of investments and politic on environmental and social responsibilities.

Fe (III) reducing bacteria, petroleum, biodegradation

Os autores são os únicos responsáveis pelo conteúdo deste artigo.