

HIGOR GABRIEL VIANNA DA ROCHA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS MARINHAS
DEGRADADORAS DE HIDROCARBONETOS DO PETRÓLEO**



**Monografia apresentada ao Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes, da
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como pré-requisito para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia.**

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO RIO DE
JANEIRO**

DEZEMBRO / 2025

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia Geral, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, UFRJ, sob a orientação da Professora Lucy Seldin e coorientação da Doutora Karen Caroline Ferreira Santaren.

FICHA CATALOGRÁFICA**CIP - Catalogação na Publicação**

R573i Rocha, Higor Gabriel Vianna
Identificação e Caracterização de Bactérias
Marinhas Degradadoras de Hidrocarbonetos do Petróleo
/ Higor Gabriel Vianna Rocha. -- Rio de Janeiro,
2025.
44 f.

Orientador: Lucy Seldin.
Coorientador: Karen Caroline Ferreira Santaren.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto
de Microbiologia, Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia, 2025.

1. Biorremediação marinha. 2. Derramamento de
óleo. 3. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
(HPA). 4. PCR. 5. Bioemulsificantes. I. Seldin,
Lucy, orient. II. Ferreira Santaren, Karen
Caroline, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

FOLHA DE APROVAÇÃO

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO NO RCS DE
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO, BACHARELADO EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

ALUNO(A): HIGOR GABRIEL VIANNA DA ROCHA DRE: 122062956

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Mateus Gomes de Godoy (Presidente)
Prof. Vitória da Silva Pereira Domingues
Prof. Ana Maria Mazotto de Almeida
Prof. Livia Vieira Araújo de Castilho (Suplente)

**Título da Monografia: “Identificação e Caracterização de Bactérias Marinhas
Degradadoras de Hidrocarbonetos do Petróleo”**

Local: Sala D-27, CCS-UFRJ.

Data e hora de início: 02 de dezembro de 2025 às 09:00 horas.

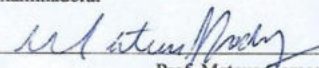
Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota 9,0 neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca examinadora, aluno, orientador (e/ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 02 de dezembro de 2025.

NOTA:

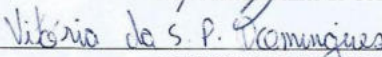
Banca Examinadora:

9,0



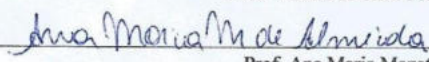
Prof. Mateus Gomes de Godoy (Presidente)

9,0



Prof. Vitória da Silva Pereira Domingues

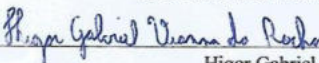
9,0



Prof. Ana Maria Mazotto de Almeida

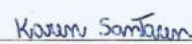
Prof. Livia Vieira Araújo de Castilho (Suplente)

Aluno(a):



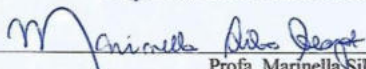
Higor Gabriel Vianna da Rocha

**Orientador(a)
(e coorientador):**

Prof. Lucy Seldin e Karen Caroline Ferreira Santaren

Coordenadora de



Prof. Marinella Silva L. Aport

TCC:

AGRADECIMENTOS

É impossível encerrar esta etapa sem agradecer a todos que, de alguma forma, fizeram parte da minha trajetória. Ao longo desses quatro anos, cada gesto de apoio, direto ou indireto, grande ou pequeno, ajudou a sustentar o caminho que me trouxe até aqui. Este trabalho carrega um pouco de cada uma dessas presenças.

Primeiramente, agradeço às três mulheres da minha vida. À minha mãe, que sempre investiu em mim, dedicando anos de luta para nos oferecer dignidade e conforto dentro do possível. À minha irmã, cuja presença eu não imagino perder, que me arranca risos nos dias difíceis e está sempre disposta a me ajudar. E à minha avó, sem a qual não existiriam minha mãe, minha irmã e nem eu. Uma mulher incansável, que fez e faz tudo pelos filhos e netos e que é a razão pela qual eu desejo conquistar meu lugar no mundo. Eu amo profundamente cada uma de vocês.

Agradeço também aos amigos que conheci durante o ensino médio no IFRJ, que caminharam ao meu lado não apenas no período em que descobri minha paixão pela ciência, enquanto ainda cursávamos o técnico em química, mas também na UFRJ. Mesmo que estivéssemos distantes das mesmas salas de aula, cada um foi fundamental no meu apoio emocional, especialmente Camille, Samuel e Fabi, além dos outros que, ao lerem estas palavras, saberão que fazem parte disso. Entre encontros aleatórios pelos corredores, chopadas e idas ao Cobal, construímos memórias que jamais esquecerei (e outras que vocês jamais vão me deixar esquecer).

Entre as muitas pessoas incríveis que cruzaram meu caminho ao longo da graduação, algumas se tornaram particularmente especiais: Yasmin, Luana, Matheus e Pâmella. A presença de vocês transformou esses quatro anos em algo muito mais leve, gentil e possível. Cada conversa, cada risada e cada silêncio compartilhado ajudou a tornar o peso do percurso menor. De certa forma, foi inesperado encontrar em vocês uma parte tão importante da minha história. Vocês estiveram comigo nas vitórias e, sobretudo, nas muitas derrotas. Nada disso teria sido possível sem vocês, e sou muito grato por ter vivido essa etapa ao lado de cada um.

Durante essa caminhada, tive o privilégio de desenvolver minha iniciação científica no LGM, onde realizei grande parte do trabalho que culminou neste projeto. Agradeço imensamente à professora Lucy por ter acreditado em mim desde o início, por ter me dado essa chance no laboratório e, principalmente, por ter tido muita paciência comigo (e haja paciência). Agradeço também à doutora Karen, a melhor coordenadora que eu poderia ter desejado, sempre cuidadosa, compreensiva e paciente, e que se tornou um verdadeiro exemplo para mim na vida acadêmica. Minha gratidão se estende à Janinha, sempre pronta a ajudar de um jeito simples e tranquilo, e a todos do LGM, cuja convivência e ensinamentos contribuíram muito para o meu aprendizado.

Além disso, tive a oportunidade de conhecer no LGM duas pessoas incríveis que se tornaram amigas muito queridas, Larissa e Helena. Agradeço à Larissa por todo apoio, pelos momentos de descontração e pelas risadas (algumas com você e outras de você, no melhor sentido possível) que me ajudaram nos dias mais difíceis. Sua trajetória longa e intensa, que acompanhei de perto e na qual também pude ajudar, foi uma inspiração para mim, e tudo isso sempre aconteceu de forma muito recíproca. À Helena, agradeço pela amizade que, mesmo começando mais tarde, rapidamente se tornou essencial. Você se tornou uma presença importante, e nos dias em que coincidíamos na rotina (mesmo não sendo tão frequentes), aparecia com um “tá tudo bem?” e um bom humor que sempre marcava o momento.

Agradeço aos membros da banca por aceitarem avaliar este trabalho e por dedicarem seu tempo e conhecimento para suas valiosas contribuições.

Por fim, agradeço às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPERJ pelo apoio financeiro e institucional, que tornou possível a realização deste trabalho.

RESUMO

HIGOR GABRIEL VIANNA DA ROCHA

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS MARINHAS DEGRADADORAS DE HIDROCARBONETOS DO PETRÓLEO

Orientadora: Lucy Seldin

Coorientadora: Karen Caroline Ferreira Santaren

Resumo da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

A exploração intensa de petróleo, especialmente em ambientes marinhos, tem contribuído para eventos de contaminação ambiental de diferentes magnitudes. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) de petróleo apresentam elevado potencial tóxico, mutagênico e carcinogênico, além de persistirem no ambiente, gerando riscos ao ecossistema e à saúde humana. Entre 2019 e 2023, foram registradas 270 ocorrências de descargas de óleo cru no Brasil, evidenciando a necessidade de ferramentas eficazes para a descontaminação e o monitoramento desses ambientes. Os microrganismos desempenham papel crucial na degradação de hidrocarbonetos de petróleo e na produção de bioemulsificantes e biosurfactantes, contribuindo para a remoção natural desses poluentes. Neste estudo, buscou-se selecionar estirpes bacterianas com potencial para futura aplicação em estudos de biorremediação e biomonitoramento. Para isso, foram isoladas e caracterizadas estirpes presentes em amostras de água coletadas em oito praias do litoral do Rio de Janeiro, incluindo Arpoador, Grumari, Vermelha, Sahy, Itacuruçá, Itaipuaçu, Ferradura e Itaipu, avaliando sua capacidade de tolerar e/ou degradar naftaleno – modelo de HPA. Foram montados microcosmos em triplicata contendo 0,1% de naftaleno e o isolamento foi realizado em meio ágar marine, tendo sido isoladas pelo menos 28 colônias de cada praia, totalizando 231 estirpes. O DNA das estirpes foi extraído para identificação molecular baseada no gene que codifica o 16S rRNA, e todas as estirpes foram submetidas a testes de emulsificação. Os testes de deslocamento de óleo e colapso da gota foram realizados quando o índice de emulsificação foi igual ou superior a 40%. Foi também testada a capacidade das estirpes em degradar HPA, através do crescimento em meio contendo naftaleno como única fonte de carbono. Por fim, genes marcadores relacionados à degradação de HPA foram detectados por PCR. Alguns gêneros foram encontrados exclusivamente em praias específicas, como *Frondebacter* e *Novosphingobium* (em Arpoador), enquanto outros, como *Salipiger* e *Alteromonas*, foram isolados de mais da metade das praias. Dezoito estirpes apresentaram índices de emulsificação entre 40% e 72%, das quais seis também foram positivas nos testes de colapso de gota e deslocamento de óleo. Dezesete estirpes cresceram utilizando naftaleno como única fonte de carbono, e foi possível detectar genes de degradação de HPA, por PCR, a partir de oito delas. Considerando o potencial

de degradação e a frequência de gêneros isolados de praias, estirpes dos gêneros *Alteromonas*, *Salipiger* e *Pseudoceanicola* se destacaram como promissoras para a biorremediação de HPA. Entre elas, algumas estirpes de *Pseudoceanicola* e *Alteromonas* também demonstraram produção de bioemulsificantes e biossurfactantes, reforçando seu potencial. A caracterização dessas estirpes permitiu formar uma coleção de culturas com potencial aplicação em estudos de biorremediação e biomonitoramento, oferecendo subsídios importantes para estratégias de recuperação de ambientes marinhos tropicais contaminados por derivados do petróleo.

Palavras-chave: biorremediação marinha, bioemulsificantes, biossurfactantes, derramamento de óleo, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), PCR

ABSTRACT**HIGOR GABRIEL VIANNA DA ROCHA****IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS MARINHAS
DEGRADADORAS DE HIDROCARBONETOS DO PETRÓLEO****Orientadora: Lucy Seldin****Coorientadora: Karen Caroline Ferreira Santaren**

Abstract da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

The intensive exploitation of petroleum, especially in marine environments, has contributed to contamination events of different magnitudes. Petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) present high toxic, mutagenic and carcinogenic potential, in addition to persisting in the environment, posing risks to ecosystems and human health. Between 2019 and 2023, 270 occurrences of crude oil discharges were recorded in Brazil, highlighting the need for effective tools for the decontamination and monitoring of these environments. Microorganisms play a crucial role in the degradation of petroleum hydrocarbons and in the production of biosurfactants and bioemulsifiers, contributing to the natural removal of these pollutants. In this study, the aim was to select bacterial strains with potential for future application in bioremediation and biomonitoring studies. For this purpose, strains present in water samples collected from eight beaches along the coast of Rio de Janeiro were isolated and characterized, including Arpoador, Grumari, Vermelha, Sahy, Itacuruçá, Itaipuaçu, Ferradura and Itaipu, assessing their ability to tolerate and degrade naphthalene – a model PAH. Microcosms were set up in triplicate containing 0.1% naphthalene and the isolation was performed on marine agar medium, with at least 28 colonies isolated from each beach, totaling 231 strains. The DNA of the strains was extracted for molecular identification based on the 16S rRNA gene, and all strains were subjected to emulsification tests. Oil displacement and drop collapse assays were performed when the emulsification index was equal to or higher than 40%. The ability of the strains to degrade PAH was also tested through growth in medium containing naphthalene as the sole carbon source. Finally, marker genes related to PAH degradation were detected by PCR. Some genera were found exclusively in specific beaches, such as *Frondebacter* and *Novosphingobium* (in Arpoador), while others, such as *Salipiger* and *Alteromonas*, were isolated from more than half of the beaches. Eighteen strains showed emulsification indices between 40% and 72%, of which six were also positive in the drop collapse and oil displacement assays. Seventeen strains grew using naphthalene as the sole carbon source, and it was possible to detect PAH-degrading genes by PCR in eight of them. Considering the degradation potential and the frequency of genera isolated from the beaches, strains of the genera *Alteromonas*, *Salipiger* and *Pseudoceanicola* stood out as promising for

PAH bioremediation. Among them, some strains of *Pseudoceanicola* and *Alteromonas* also demonstrated the production of biosurfactants and bioemulsifiers, reinforcing their potential. The characterization of these strains allowed the formation of a culture collection with potential application in bioremediation and biomonitoring studies, offering important support for the development of strategies aimed at the recovery of tropical marine environments contaminated by petroleum derivatives.

Keywords: marine bioremediation, bioemulsifiers, biosurfactants, oil spill, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), PCR

RESUMO PARA LEIGOS

HIGOR GABRIEL VIANNA DA ROCHA

BACTÉRIAS MARINHAS QUE AJUDAM A COMBATER A POLUIÇÃO POR ÓLEO: DESCOBRINDO MICRORGANISMOS QUE DEGRADAM HIDROCARBONETOS

Orientadora: Lucy Seldin

Coorientadora: Karen Caroline Ferreira Santaren

Resumo para leigos da Monografia apresentada no Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia e aprovação no RCS Trabalho de Conclusão de Curso.

O derramamento de petróleo em praias e mares é um problema frequente e preocupante, podendo afetar ecossistemas inteiros e representar riscos à saúde humana, já que alguns componentes do petróleo podem causar doenças, e até mesmo levar à morte. Para investigar formas naturais de remover poluentes do petróleo de águas marinhas, nosso estudo focou em procurar bactérias, organismos tão pequenos que só podem ser vistos com microscópio, que vivem na água do mar e que podem usar os componentes do petróleo como alimento, degradando moléculas complexas em partes menores que não fazem tanto mal ao ambiente. Além disso, algumas bactérias produzem substâncias chamadas bioemulsificantes e biossurfactantes, que funcionam como detergentes naturais, ajudando a dividir as moléculas de petróleo em partes menores, que serão mais facilmente degradadas. Coletamos amostras de água de oito praias do litoral do Rio de Janeiro, a partir das quais encontramos mais de 200 bactérias diferentes, e observamos quais conseguiam usar os poluentes como alimento e quais produziam esses detergentes naturais. Descobrimos que alguns grupos de bactérias, como *Alteromonas*, *Salipiger* e *Pseudoceanicola*, aparecem em várias praias e têm grande capacidade de degradar esses poluentes, além de produzir essas substâncias que facilitam sua remoção. Selecionamos então esses grupos de bactérias, por estarem distribuídos de forma consistente e por suas habilidades de degradar poluentes, podendo servir não apenas como aliados na recuperação de ambientes marinhos, mas também como indicadores biológicos, ajudando a monitorar a saúde das praias. Com esses resultados, podemos contribuir para a preservação de ecossistemas costeiros e para a proteção da população que frequenta essas áreas.

ÍNDICE

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	viii
RESUMO PARA LEIGOS.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 O petróleo	1
1.2 Contaminação ambiental por petróleo e suas implicações	2
1.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e toxicidade associada	3
1.4 Métodos de biorremediação e biomonitoramento	5
1.5 Diversidade bacteriana e genes funcionais na biorremediação de hidrocarbonetos.....	8
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVOS	12
3.1 Objetivos específicos	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Amostragem de água marinha	13
4.2 Montagem de microcosmos para enriquecimento de bactérias degradadoras e/ou tolerantes à naftaleno	13
4.3 Isolamento de bactérias marinhas degradadoras e/ou tolerantes à naftaleno	14
4.4 Identificação das estirpes isoladas	14
4.5 Teste de degradação de naftaleno	14
4.6 Teste de emulsificação.....	15
4.7 Testes de colapso da gota e deslocamento de óleo	15
4.8 Amplificação de genes relacionados à degradação de HPA.....	15
5. RESULTADOS	16
5.1 Características das áreas de amostragem.....	16
5.2 Isolamento e identificação de estirpes bacterianas	16
5.3 Teste de degradação de naftaleno e amplificação de genes associados à degradação de HPA	18
5.4 Testes de emulsificação, deslocamento de óleo e colapso de gota.....	19
6. DISCUSSÃO	21
7. CONCLUSÃO.....	26
8. REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

1.1 O petróleo

Considerado um composto orgânico de estrutura complexa, o petróleo é majoritariamente uma mistura de hidrocarbonetos, isto é, espécies químicas orgânicas formadas exclusivamente por átomos de carbono e hidrogênio, que variam desde compostos simples, como o metano, estruturas com dezenas de átomos de carbono, como o n-tetradecano, ou até mesmo estruturas com formações de anéis aromáticos, como o benzeno (Speight, 2015).

Dentre as frações de hidrocarbonetos que compõem o petróleo, destacam-se os n-alcanos, os cicloalcanos, os hidrocarbonetos monocíclicos aromáticos (HMA) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) (Guermouche et al., 2015). Esses grupos diferem estruturalmente pela presença de cadeias lineares ou ramificadas nos n-alcanos, de anéis saturados nos cicloalcanos e de sistemas conjugados em um único (HMA) ou múltiplos (HPA) anéis. Essas diferenças estruturais influenciam as propriedades químicas e a estabilidade desses compostos (Speight, 2015). Além dos hidrocarbonetos, o petróleo também é formado por compostos contendo enxofre, nitrogênio, oxigênio e traços de metais pesados, como vanádio e níquel (Hasan et al., 2024).

O petróleo é encontrado em poros e fraturas de formações rochosas, onde se acumula em rochas-reservatório. Sua formação tem origem na decomposição de matéria orgânica — como restos de plâncton e microrganismos marinhos — soterrada ao longo de milhões de anos, sofrendo transformações químicas e microbiológicas sob altas pressões e temperaturas (Lima et al., 2014).

Devido à sua composição e versatilidade, o petróleo passou a exercer um papel central no fornecimento de energia e na economia global, sendo utilizado para a produção de uma ampla variedade de produtos, incluindo combustíveis fósseis e produtos petroquímicos usados na fabricação de plásticos, fertilizantes, fármacos, entre outros (Speight e El Gendy, 2017). Segundo dados do *Energy Institute*, apresentados na *Statistical Review of World Energy* (Revisão Estatística Mundial de Energia) mais recente (2024), em 2023 o mundo consumiu 619,63 EJ de energia, dos quais aproximadamente 31,7% (196,43 EJ) foram provenientes do petróleo, o que representou um aumento de 2,5% em relação ao ano anterior.

Esse cenário evidencia que a demanda por esse insumo continua em crescimento, acompanhando o aumento geral do consumo de energia mundial, mesmo com a expansão de outras fontes energéticas. Além disso, o Brasil se destacou como o sétimo maior produtor de barris de petróleo no mundo no mesmo período (*Energy Institute*, 2024). No país, a indústria

do petróleo e gás responde por 17% do produto interno bruto (PIB) industrial e por 33,1% da oferta interna de energia, revelando sua importância dentro da indústria nacional (IBP, 2025).

1.2 Contaminação ambiental por petróleo e suas implicações

Devido à exploração intensiva do petróleo, principalmente em ambientes marinhos, derramamentos de óleo de diferentes escalas são eventos frequentes, geralmente resultantes de acidentes durante a produção e transporte de petróleo e seus derivados em todo o mundo (Acosta-González et al., 2015). Entre 2013 e 2023, de acordo com o Relatório Anual de Segurança Operacional das Atividades de Exploração e Produção de Petróleo e Gás Natural, foram registrados em território brasileiro 767 incidentes com descarga de óleo cru e óleo diesel em ambientes marinhos (Figura 1). Os maiores derramamentos desse período ocorreram principalmente no litoral Sudeste, nas bacias entre Rio de Janeiro, São Paulo e Espírito Santo, regiões que concentram grande parte da produção nacional em águas profundas (ANP, 2024; IBP, 2025).



Figura 1 – Incidentes com descarga de óleo e diesel em ambiente marinho no Brasil entre 2013 e 2023, apresentando os volumes vazados (m³) e a quantidade anual de eventos relacionados a óleo e a diesel. As barras representam os volumes de óleo e diesel derramados, enquanto as linhas indicam o número de incidentes para cada tipo de substância no período analisado (ANP, 2024).

Derramamentos de óleo em ambientes marinhos podem acarretar efeitos nocivos aos sistemas ecológicos e à saúde humana, além de perdas econômicas significativas (Macaulay e Rees, 2014). Do ponto de vista econômico, os impactos causados por esses acidentes afetam diretamente atividades como a pesca, o turismo e a indústria costeira, gerando perdas financeiras que vão desde pequenas comunidades locais (Estevo et al., 2021; Soares et al., 2022) até grandes setores da economia (Court et al., 2020). Além disso, esses eventos resultam em custos significativos com ações de contenção, limpeza e recuperação ambiental, além de prejuízos para diferentes cadeias produtivas (Alló e Loureiro, 2013; Sandifer et al., 2021).

No contexto ambiental, os impactos dos derramamentos de óleo são variados e complexos, incluindo alterações na distribuição de espécies, toxicidade para a vida marinha, mudanças na comunidade planctônica, degradação de habitats, entre outros (Estevo et al., 2021). Alguns estudos mostraram impactos diretos em populações de peixes, invertebrados e grandes predadores marinhos, como o atum-rabilho (*Thunnus thynnus*) e o mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*), durante um acidente que ocorreu no Golfo do México em 2010, com registros de alterações fisiológicas, comportamentais e reprodutivas (Beyer et al., 2016; Nelson et al., 2016).

Dentre os riscos gerados à saúde humana, destacam-se quadros alérgicos, respiratórios e dermatológicos, observados tanto em trabalhadores da limpeza quanto em moradores das áreas afetadas (Sandifer et al., 2021). O GuLF STUDY identificou maior prevalência de tosse, sibilos e dispneia, além de aumento do risco de asma em indivíduos expostos a vapores de hidrocarbonetos e dispersantes químicos (Sandler et al., 2014; Kwok et al., 2017). Além disso, dermatites de contato e eczemas foram relatados em pessoas com contato direto com óleo cru e produtos químicos de descontaminação (Zock et al., 2007).

Exposições crônicas a hidrocarbonetos e solventes presentes em derramamentos de óleo podem desencadear respostas imunotóxicas e agravar reações alérgicas, afetando simultaneamente diferentes sistemas do corpo (Laffon, Pásaro, e Valdiglesias, 2016). Além disso, esse tipo de exposição está associado a riscos mais graves à saúde, incluindo diversos tipos de câncer, como melanoma e câncer de pulmão, toxicidades múltiplas (genotóxica, hematotóxica e cardiotoxica) e impactos sobre o sistema endócrino, sistema nervoso, rins e desenvolvimento embrionário (Ossai et al., 2020). Estudos também indicam que trabalhadores cronicamente expostos a certas classes de hidrocarbonetos podem apresentar redução nos níveis séricos de imunoglobulinas, refletindo comprometimento da resposta imune humoral, além de efeitos hematológicos, como hemólise de eritrócitos após inalação oral ou nasal de naftaleno (Szczeklik et al., 1994; Srogi, 2007).

1.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e toxicidade associada

Os riscos ao ambiente e à saúde pública decorrentes da exposição a compostos derivados do petróleo estão diretamente relacionados à estrutura química dos hidrocarbonetos presentes (Truskewycz et al., 2019). Os HPA são particularmente preocupantes devido à sua persistência no ambiente e potencial toxicidade. Esses compostos apresentam estrutura formada por dois ou mais anéis aromáticos condensados, planos e conjugados, o que lhes confere elevada estabilidade, baixa solubilidade em água e alta lipofilicidade, favorecendo a persistência e a

bioacumulação no ambiente marinho (Haritash e Kaushik, 2009). Embora existam mais de cem HPA descritos, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) classifica dezesseis deles (Figura 2) como contaminantes prioritários devido ao potencial tóxico que apresentam (Mallah et al., 2022).

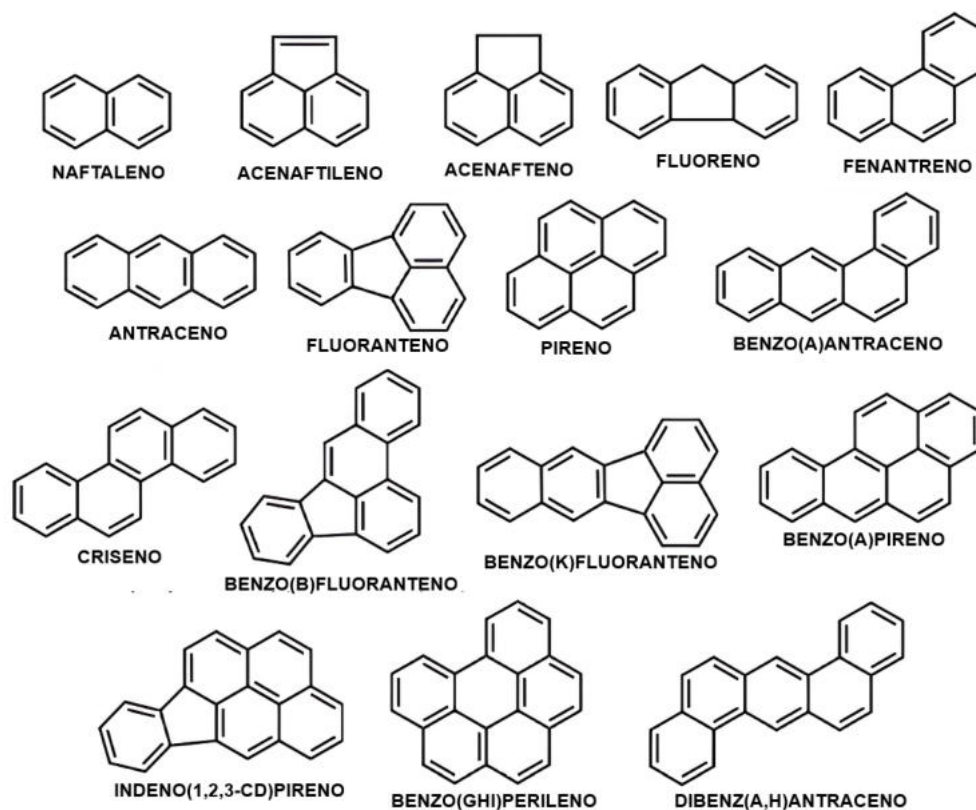


Figura 2 – Representação 2D dos 16 HPA prioritários segundo a USEPA (Adaptado de Reizer, Viskolcz e Fiser, 2022).

Os HPA exercem grande parte de seu efeito mutagênico e carcinogênico após bioativação hepática e extra-hepática mediada dependente da sinalização AhR/CYP, sendo CYP1A1 e CYP1B1 enzimas centrais na conversão de HPA em epóxidos e diol-epóxidos reativos (Masaki et al., 2021; Montano et al., 2025). Os metabólitos eletrofílicos podem se ligar covalentemente às bases do DNA, como ocorre com os adutos de metabólitos finais de benzo[a]pireno no N2 da guanina. Esses eventos estão associados a mutações específicas observadas em tumores humanos, incluindo substituições de guanina por timina em regiões críticas do gene p53. Esse gene desempenha um papel fundamental como supressor tumoral, regulando a divisão celular, reparando danos no DNA e promovendo a eliminação de células comprometidas, contribuindo assim para a prevenção do desenvolvimento de tumores (Pfeifer et al., 2002; Tretyakova et al., 2002; Moorthy, Chu e Carlin, 2015).

Mecanismos alternativos de ativação exercem influência importante: a geração de o-quinonas a partir de HPA pelas dihidrodiol-desidrogenases inicia ciclos redox que produzem

espécies reativas de oxigênio (ROS), ocasionando danos oxidativos ao DNA e formando adutos que comprometem os sistemas de reparo e a estabilidade celular (Penning et al., 1999; Park et al., 2006; Ryu e Hong, 2024). Esses efeitos oxidativos reforçam a ação direta dos epóxidos, expandindo o espectro de lesões capazes de favorecer a transformação celular e o desenvolvimento tumoral (Moorthy, Chu e Carlin, 2015).

Evidências recentes indicam que os efeitos dos HPA ultrapassam a genotoxicidade clássica, envolvendo também profundas alterações epigenéticas. Entre essas modificações destacam-se mudanças na metilação do DNA, variações nos padrões de histonas e perfis de miRNA desregulados, fenômenos que, em modelos experimentais, foram associados a efeitos multigeracionais. Esses achados sugerem que a exposição a HPA não se limita à indução de lesões diretas no DNA, mas pode provocar reprogramações persistentes da expressão gênica (Bukowska e Sicińska, 2021; Wan et al., 2022; Pandelides et al., 2023).

Paralelamente, a ativação do eixo AhR/CYP pode intensificar respostas inflamatórias e estimular sinais pró-proliferativos em determinados contextos celulares. Assim, o risco toxicológico dos HPA emerge de uma complexa interação entre múltiplos mecanismos: ativação metabólica, formação de adutos covalentes, estresse oxidativo, alterações epigenéticas e fatores que modulam a susceptibilidade genética e ambiental do organismo à exposição (Yuan et al., 2025; Zhang et al., 2025).

1.4 Métodos de biorremediação e biomonitoramento

A crescente demanda por petróleo e seus derivados, aliada à alta periculosidade desses compostos, tem intensificado os riscos ambientais e sanitários decorrentes de sua exploração e uso. Assim, torna-se indispensável o desenvolvimento de ferramentas eficazes para o monitoramento e a remediação de áreas contaminadas (Sharma et al., 2024). Os derramamentos de óleo, especialmente em ambientes marinhos, exigem abordagens integradas que considerem as propriedades físico-químicas do petróleo, as condições ambientais e a sensibilidade ecológica das áreas afetadas (Tewari e Sirvaiya, 2015).

De modo geral, as técnicas de remediação de áreas impactadas por petróleo são classificadas em métodos físicos, químicos, térmicos e biológicos, ou biorremediação (Dave e Ghaly, 2011; Dhaka e Chattopadhyay, 2021; Purohit et al., 2024). Cada abordagem apresenta vantagens operacionais, mas também limitações relevantes. Os métodos físicos, como barreiras de contenção e skimmers, permitem a remoção mecânica do óleo da superfície, porém sua eficiência é restrita a derramamentos recentes e a condições ambientais favoráveis, além de não

atuarem sobre frações dissolvidas ou emulsificadas do contaminante (Dhaka e Chattopadhyay, 2021).

Os métodos químicos, que incluem o uso de dispersantes e desemulsificantes, podem facilitar a dispersão do óleo e aumentar sua biodisponibilidade, mas não promovem a remoção efetiva do poluente e podem apresentar efeitos tóxicos para organismos aquáticos (Ivshina et al., 2015). Já os métodos térmicos, como a queima *in situ*, possibilitam a rápida redução do volume de óleo, porém dependem de condições operacionais específicas e podem gerar emissões atmosféricas e impactos ambientais adicionais, o que limita sua aplicação em ecossistemas sensíveis (Ekperusi et al., 2019).

Diante dessas limitações, a biorremediação tem ganhado destaque como uma abordagem biológica voltada à transformação dos contaminantes de forma mais sustentável (Purohit et al., 2024), ao empregar organismos vivos capazes de metabolizar compostos tóxicos de maneira natural. Nesse processo, substâncias complexas podem ser convertidas em compostos menos complexos, o que, em muitos casos, contribui para a redução da toxicidade ambiental (Macaulay e Rees, 2014), embora alguns intermediários ainda possam apresentar efeitos adversos ou permanecer persistentes no ambiente (Bekins et al., 2020; San-Martin et al., 2020).

Um exemplo é a fitorremediação, que utiliza plantas aquáticas como *Alternanthera philoxeroides* e *Sagittaria lancifolia* na remoção e degradação de hidrocarbonetos em ecossistemas contaminados (Sharma et al., 2024). Já a biorremediação microbiana fundamenta-se na ação de bactérias e fungos capazes de metabolizar hidrocarbonetos como fontes de carbono e energia, promovendo sua conversão em compostos potencialmente menos tóxicos e contribuindo para a restauração ambiental (Varjani, 2017; Rahmati et al., 2022).

Entre as principais abordagens empregadas estão a bioaumentação (introdução de estirpes microbianas com alta capacidade degradadora no ambiente), bioestimulação (adição de nutrientes ou ajustes nas condições ambientais para favorecer o crescimento dos microrganismos nativos), uso de biossurfactantes (aplicação de compostos tensoativos microbianos que aumentam a biodisponibilidade dos hidrocarbonetos) e atenuação natural (monitoramento dos processos naturais de degradação sem intervenção direta) (Rahmati et al., 2022). Essas estratégias, quando ajustadas às condições ambientais locais, podem alcançar taxas significativas de descontaminação (Rahmati et al., 2022).

Considerando a aplicação de estratégias de biorremediação em áreas impactadas por petróleo e seus derivados, o biomonitoramento surge como uma abordagem complementar para a avaliação da contaminação ambiental e do progresso dos processos de recuperação

(Davletgildeeva e Kuznetsov, 2024). Ao incorporar respostas biológicas aos dados ambientais, essa estratégia permite identificar e quantificar os efeitos decorrentes da exposição a HPA e a outros compostos associados ao petróleo, contribuindo para uma compreensão mais ampla e integrada da dinâmica de degradação e recuperação dos ecossistemas afetados (Vethaak et al., 2017).

Diferentemente das análises físico-químicas convencionais, que se restringem à identificação e à quantificação dos contaminantes no ambiente, o biomonitoramento oferece uma perspectiva funcional, ao evidenciar como os organismos respondem à exposição a esses compostos em níveis bioquímicos, fisiológicos e moleculares (Davletgildeeva e Kuznetsov, 2024). Essa abordagem possibilita avaliar não apenas a presença dos poluentes, mas também seus efeitos biológicos e ecológicos, sendo particularmente relevante em ambientes complexos, como os ecossistemas marinhos (Kumar et al., 2024).

Nesse contexto, bactérias degradadoras de hidrocarbonetos destacam-se como potenciais bioindicadoras, uma vez que apresentam respostas rápidas e mensuráveis à presença dos contaminantes (García-García et al., 2023). Em ambientes contaminados, estudos têm demonstrado um enriquecimento natural de comunidades bacterianas capazes de utilizar hidrocarbonetos do petróleo como fonte de carbono e energia. Essa adaptação microbiana evidencia tanto o potencial desses microrganismos para processos de biorremediação quanto sua utilidade como biomarcadores de contaminação em ecossistemas marinhos (Cardoso, 2022; Mohammed, Omar e Hasan, 2023).

Na prática, o uso de microrganismos como bioindicadores de poluição por óleo tem sido realizado por meio de abordagens que permitem detectar e quantificar alterações nas comunidades microbianas em ambientes impactados. Estudos recentes têm utilizado o sequenciamento do gene que codifica o 16S rRNA e abordagens metagenômicas para caracterizar mudanças na estrutura e na diversidade bacteriana em solos contaminados por hidrocarbonetos, evidenciando o enriquecimento de grupos microbianos associados à degradação de compostos petrolíferos (Liu et al., 2024; Bayatian, Pourbabaee e Amoozegar, 2025). Em complemento, a identificação e a quantificação de genes funcionais relacionados a rotas metabólicas de degradação permitem inferir o potencial funcional das comunidades microbianas e sua resposta à contaminação, contribuindo para uma avaliação mais integrada da poluição por petróleo (Valencia-Luna et al., 2025).

Dessa forma, o uso integrado do biomonitoramento em áreas submetidas à biorremediação permite uma avaliação mais abrangente da eficácia das estratégias adotadas, ao possibilitar a detecção de impactos sobre organismos vivos e a identificação precoce de

possíveis desequilíbrios ecológicos (Pérez-Vázquez et al., 2024). Essa abordagem integrada fornece subsídios importantes para o aprimoramento de ações de manejo e conservação ambiental, bem como para o acompanhamento da recuperação de ecossistemas afetados por contaminação por petróleo (Martins, Costa e Bianchini, 2023).

1.5 Diversidade bacteriana e genes funcionais na biorremediação de hidrocarbonetos

Entre os microrganismos capazes de biorremediar ambientes contaminados por petróleo, destacam-se as bactérias, que utilizam hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia e representam os principais agentes na degradação desses poluentes, desempenhando papel central na limpeza natural de áreas afetadas (Waikhom et al., 2020). Diversos estudos na literatura descrevem estirpes pertencentes a gêneros como *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus* e *Mycobacterium* por sua capacidade de degradar HPA (Jin, Kim e Jeon, 2015; Kuppusamy et al., 2017; Sakshi e Haritash, 2020; Walton e Buchan, 2024).

A degradação de HPA por bactérias geralmente se inicia com a hidroxilação de um dos anéis aromáticos, mediada por enzimas como dioxigenases ou monooxigenases, tornando os HPA mais suscetíveis a reações de degradação subsequentes (Kanaly e Harayam, 2000). Em seguida, ocorrem reações de rearranjo e clivagem do anel aromático, gerando intermediários monocíclicos que podem ser direcionados para o metabolismo central bacteriano (Waikhom et al., 2020). Nem todas as bactérias degradadoras de HPA realizam sua mineralização completa, alguns grupos são capazes apenas de converter o composto em intermediários menos tóxicos através da hidroxilação e adição de grupos metoxila (Walton e Buchan, 2024). Esses intermediários podem ser metabolizados ou acumulados na célula bacteriana, dependendo das condições ambientais e da capacidade metabólica da espécie envolvida (Walton e Buchan, 2024).

Além da degradação de contaminantes, algumas bactérias também sintetizam bioemulsificantes e biosurfactantes, ampliando as possibilidades de aplicação em processos industriais e intervenções ambientais e aumentando a eficiência na remoção de poluentes por meio de uma diversidade de estruturas e mecanismos (Satpute et al., 2010). Essas moléculas anfifílicas de origem biológica possuem regiões hidrofílicas e hidrofóbicas e apresentam menor toxicidade e maior biodegradabilidade em comparação aos surfactantes sintéticos, atuando como agentes de interface ao promoverem a miscibilidade entre fases normalmente imiscíveis, como óleo/água ou ar/água (Silva et al., 2022).

Embora tanto os biosurfactantes quanto os bioemulsificantes formem emulsões estáveis, apenas os biosurfactantes têm a capacidade de reduzir significativamente as tensões

superficial e interfacial (Uzoigwe et al., 2015). Essa diferença funcional é essencial para definir aplicações específicas para cada tipo de molécula (Mujumdar, Joshi e Karve, 2020).

A bioprospecção de bactérias capazes de degradar compostos tóxicos e/ou produzir bioemulsificantes ou biosurfactantes tem se consolidado como uma estratégia promissora no desenvolvimento de tecnologias sustentáveis para a biorremediação de ambientes contaminados por petróleo e seus derivados. Microrganismos nativos de ecossistemas impactados, como zonas costeiras, manguezais e ambientes marinhos, frequentemente possuem adaptações metabólicas que os tornam eficientes na degradação de hidrocarbonetos e na síntese de moléculas anfifílicas com potencial para aumentar a biodisponibilidade desses poluentes (Banat et al., 2014; Sharma et al., 2024).

Considerando esse panorama, o isolamento e a caracterização de estirpes bacterianas com capacidade para degradar hidrocarbonetos e produzir bioemulsificantes ou biosurfactantes representam uma etapa essencial para ampliar as estratégias disponíveis para descontaminação de áreas impactadas por derramamentos de óleo. Esses estudos contribuem para a ampliação do conhecimento sobre a diversidade microbiana e sobre os mecanismos envolvidos na degradação de compostos derivados do petróleo, oferecendo bases para o desenvolvimento futuro de soluções mais adequadas às particularidades de cada ecossistema (Uzoigwe et al., 2015).

O emprego de métodos moleculares (independentes de cultivo), como a reação em cadeia da polimerase (PCR) direcionada a genes funcionais, o sequenciamento do gene que codifica o 16S rRNA e análises de bioinformática, tem contribuído significativamente para a detecção e identificação de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos em ambientes marinhos.

Diferentes estudos estimam uma vasta diversidade de microrganismos que carregam genes chave, como *alkB*, *ladA*, *rhd* e *pahE*, que codificam enzimas envolvidas na oxidação inicial de alcanos e na hidroxilação de anéis aromáticos de HPA. A distribuição desses genes reflete adaptações metabólicas a diferentes condições ambientais, como variações de temperatura, salinidade e disponibilidade de substratos (Cébron et al., 2008; Liu et al., 2015; Liang, Huang e Wang, 2019b).

Abordagens moleculares, combinadas a métodos clássicos (dependentes de cultivo) como enriquecimento e cultivo em diferentes meios de cultura, não apenas ampliam a eficiência da bioprospecção em ambientes complexos como os sistemas marinhos, mas também fornecem subsídios fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de biorremediação mais direcionadas, adaptadas às condições locais e apoiadas na seleção de bioindicadores

microbianos baseados em genes funcionais, permitindo um monitoramento ambiental mais preciso e preditivo (Song et al., 2021; Carlos et al., 2023; Rojas-Vargas et al., 2024).

2. JUSTIFICATIVA

Derramamentos de petróleo em ambientes marinhos configuram uma forma altamente impactante de poluição ambiental, ameaçando não apenas a integridade dos ecossistemas aquáticos, mas também a economia e a saúde pública. Entre os componentes do petróleo, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) se destacam por seu elevado potencial tóxico, mutagênico e carcinogênico, além de sua alta persistência e capacidade de bioacumulação nos organismos e nas cadeias tróficas.

Diante desse desafio, a biorremediação microbiana surge como uma alternativa sustentável, econômica e ambientalmente segura para mitigar os efeitos desses poluentes. Em especial, bactérias degradadoras de hidrocarbonetos desempenham papel fundamental nesse processo, convertendo compostos tóxicos em substâncias potencialmente menos nocivas por meio de suas vias metabólicas especializadas.

A identificação de estirpes bacterianas com capacidade para degradar HPA e/ou produzir bioemulsificantes e biosurfactantes é um passo essencial rumo ao desenvolvimento de estratégias de descontaminação mais eficazes e adaptadas às condições naturais dos ambientes afetados. A integração entre abordagens moleculares avançadas e métodos clássicos de enriquecimento e cultivo tem ampliado significativamente o potencial de descoberta e caracterização desses microrganismos, favorecendo não apenas ações de remediação, mas também o aperfeiçoamento de estratégias de biomonitoramento em ecossistemas marinhos vulneráveis à contaminação por hidrocarbonetos.

Assim, este estudo se justifica pela relevância científica e ambiental de identificar e caracterizar bactérias com potencial biotecnológico, capazes de atuar tanto na biorremediação quanto no monitoramento de áreas impactadas por petróleo. Além de contribuir para o avanço do conhecimento na área, esse trabalho visa promover soluções sustentáveis e tecnologicamente viáveis, alinhadas aos desafios globais de preservação ambiental e desenvolvimento sustentável.

3. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo identificar e caracterizar estirpes bacterianas degradadoras de naftaleno e/ou produtoras de bioemulsificantes/biossurfactantes a partir de oito praias do estado do Rio de Janeiro, para selecionar grupos com potencial para aplicação em estratégias de biorremediação e biomonitoramento ambiental.

3.1 Objetivos específicos

1. Isolar estirpes bacterianas degradadoras e/ou tolerantes ao naftaleno, provenientes de amostras de água do mar coletadas em oito praias do estado do Rio de Janeiro;
2. Identificar molecularmente as estirpes isoladas, através do sequenciamento de amplicons do gene que codifica o 16S rRNA por Sanger;
3. Avaliar o potencial das estirpes isoladas quanto à produção de moléculas com potencial emulsificante através de ensaios *in vitro*;
4. Avaliar potencial de produção de biossurfactantes pelas estirpes com atividade emulsificante detectada, utilizando os testes de colapso da gota e deslocamento de óleo como indicadores de atividade tensoativa;
5. Avaliar a capacidade das estirpes isoladas quanto à degradação de naftaleno – modelo de HPA –, através de ensaios *in vitro*;
6. Detectar a presença de genes funcionais relacionados à degradação de HPA, através de PCR, em estirpes que apresentaram resultado positivo no teste de degradação de naftaleno;
7. Utilizar os dados obtidos, bem como o padrão de distribuição dos gêneros bacterianos nas oito diferentes praias, para selecionar estirpes com potencial para aplicação futura em processos de biorremediação e biomonitoramento de ambientes marinhos impactados por contaminação por HPA.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem de água marinha

Foram coletadas amostras de água marinha em oito diferentes praias do estado do Rio de Janeiro (Tabela 1). Em cada local de coleta, foi obtido 1 L de água em frasco estéril, a uma profundidade entre 10 e 30 cm da superfície. As temperaturas da água e do ar foram medidas no momento da amostragem utilizando um termômetro. A salinidade e o pH foram determinados com auxílio de um medidor portátil (Mettler Toledo-Inlab, Leicester, Reino Unido).

Tabela 1 – Dados de localização das oito praias estudadas e respectivas datas de coleta.

Praia	Cidade	Coordenadas geográficas	Data de coleta
Arpoador (ARP)	Rio de Janeiro - RJ	22°59'15,4"S 43°12'00,1"W	Março 2022
Grumari (GRU)	Rio de Janeiro - RJ	23°02'52,7"S 43°31'17,6"W	Março 2022
Itacuruçá (ITA)	Mangaratiba - RJ	22°55'50.9"S 43°54'44.0"W	Junho 2022
Sahy (SAH)	Mangaratiba - RJ	22°56'28.9"S 44°00'29.8"W	Junho 2022
Vermelha (URC)	Rio de Janeiro - RJ	22°57'24.1"S 43°09'54.0"W	Agosto 2022
Itaipuaçu (MAR)	Maricá - RJ	22°58'13.0"S 43°00'40.4"W	Setembro 2022
Ferradura (BUZ)	Búzios - RJ	22°46'05.8"S 41°53'08.3"W	Novembro 2022
Itaipu (NIT)	Niterói - RJ	25°58'19.8"S 43°02'43.6"W	Dezembro 2022

4.2 Montagem de microcosmos para enriquecimento de bactérias degradadoras e/ou tolerantes à naftaleno

A partir das amostras coletadas, foram utilizados frascos estéreis de 50 mL para a montagem de microcosmos em triplicata, contendo 25 mL de água do mar e 0,025 g (0,1%) de naftaleno (Sigma-Aldrich, Milwaukee, Estados Unidos), utilizado como HPA. Os frascos foram posicionados horizontalmente, cobertos com papel laminado para evitar exposição à luz e mantidos sob agitação constante durante 14 dias à temperatura ambiente (entre 20 e 30 °C), para enriquecimento de bactérias capazes de tolerar e/ou degradar o naftaleno.

4.3 Isolamento de bactérias marinhas degradadoras e/ou tolerantes à naftaleno

Após 14 dias de incubação, foram coletadas alíquotas das triplicatas dos microcosmos, obtendo-se 1 mL da água enriquecida correspondente a cada praia. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-3}) em solução salina estéril a 0,85%. As diluições foram semeadas (0,1 mL) em placas contendo Ágar Marinho (Difco) e incubadas por 72 horas a 34 °C. As colônias obtidas a partir de cada amostra foram selecionadas com base em características morfológicas, como cor, tamanho e formato, para o isolamento das estirpes bacterianas.

4.4 Identificação das estirpes isoladas

O DNA genômico de todas as estirpes isoladas foi extraído utilizando o kit Fungal/Bacterial Miniprep (Zymo Research, Califórnia, Estados Unidos), conforme o protocolo do fabricante. O gene que codifica o 16S rRNA de cada estirpe foi amplificado por reação em cadeia da polimerase (PCR) com os iniciadores PA (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e PH (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') (Massol-Deya et al., 1995). O protocolo de amplificação consistiu em uma desnaturação inicial de 3 min a 95 °C, seguida de 35 ciclos de 1 min a 95 °C (desnaturação), 30 s a 48 °C (anelamento) e 2 min a 72 °C (extensão), com uma extensão final de 6 min a 72 °C.

Para a identificação molecular, produtos de PCR foram purificados utilizando o kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega Corporation, Madison, Estados Unidos), seguindo as instruções do fabricante. Um mínimo de 10 ng/ μ L de cada amostra purificada foi empregado no sequenciamento Sanger (SeqStudio™ – Applied Biosystems – Thermo Fisher), utilizando o iniciador 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') (Caporaso et al., 2011) pela Plataforma de Sequenciamento de DNA (PSEQDNA) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ.

Para a classificação taxonômica, as sequências obtidas no sequenciamento Sanger foram comparadas com o banco de dados GenBank por meio da ferramenta BLASTN do NCBI, considerando valores mínimos de 99% de cobertura e 98% de identidade.

4.5 Teste de degradação de naftaleno

As estirpes isoladas foram cultivadas em meio Tryptic Soy Broth (TSB, Difco) a 34 °C por 48 horas. Em seguida, 1 mL do cultivo foi centrifugado a $13.000 \times g$ por 15 minutos, e o sobrenadante foi descartado. O precipitado foi lavado duas vezes com solução salina estéril a 0,85%, e posteriormente adicionado ao meio Bushnell Haas suplementado com 3,5% de NaCl, em placas de 24 poços. O naftaleno 99% (Sigma–Aldrich) foi utilizado como única fonte de

carbono. Foram preparados controles negativos, sem células bacterianas, e o crescimento microbiano foi avaliado comparando-se a turbidez do meio com a do controle negativo.

4.6 Teste de emulsificação

As estirpes isoladas foram cultivadas em meio TSB a 34 °C por 48 horas. Após o cultivo, 1 mL da suspensão foi centrifugado a 13.000 × g por 15 minutos, e o sobrenadante foi transferido para tubos de 2 mL contendo 1 mL de hexadecano. A mistura foi agitada em vórtex por 2 minutos em alta velocidade, e o índice de emulsificação (E_{24}) foi calculado como a porcentagem da altura da camada emulsificada (mm) dividida pela altura total do líquido, após 24 horas em repouso à temperatura ambiente (Cooper e Goldenberg, 1987).

O teste foi realizado em triplicata, e amostras com valor médio de E_{24} igual ou superior a 40% foram consideradas positivas, sendo selecionadas para os testes de colapso da gota e deslocamento de óleo.

4.7 Testes de colapso da gota e deslocamento de óleo

Para o teste de colapso da gota, as estirpes foram cultivadas em meio TSB a 34 °C por 48 horas. Após centrifugação (13.000 × g por 15 minutos), 10 µL do sobrenadante livre de células foi depositado sobre uma lâmina de vidro recoberta com óleo cru. Como controle positivo, foram utilizados 10 µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10%, e como controle negativo, 10 µL de água destilada. O teste foi considerado positivo para a produção de biossurfactantes quando o diâmetro da gota espalhada, medido com régua milimetrada, excedeu em pelo menos 1 mm o diâmetro observado no controle negativo (Jain et al., 1991).

Para o teste de deslocamento de óleo, adicionou-se uma gota de óleo cru a 25 mL de água destilada em uma placa de Petri, e 10 µL do sobrenadante livre de células foi aplicado sobre a camada de óleo. O ensaio foi considerado positivo quando houve deslocamento do óleo, formando uma zona clara, indicando a presença de biossurfactante. Foram utilizados água destilada e SDS a 10% como controles negativo e positivo, respectivamente (Morikawa, Hirata e Imanaka, 2000).

4.8 Amplificação de genes relacionados à degradação de HPA

Diferentes reações de PCR foram realizadas com iniciadores relacionados à degradação de HPA, sendo: *pahE1F* (5'-TGCGGCGGGTGTNAA YGGNA-3') / *pahE1R* (5'-CCTGAGGAATCTCCCTGAGGAACTCGGACATYTSTGCCARAAGGACATYTSTGCCARAA-3') para Betaproteobacteria e Gammaproteobacteria; *pahE2F* (5'-AGCATGGGAACKYTKGGNGA-3') / *pahE2R* (5'-TTTGGCGGTVACVACYTG-3') para

Alphaproteobacteria (Liang, Huang e Wang, 2019a); *Rhd GN-F* (5'-GAGATGCATACCACGTKGGTTGGA-3') /*Rhd GN-R* (5'-AGCTGTTGTTCCGGGAAGAYWGTGCMGT-3') para bactérias gram-negativas e *Rhd GP-F* (5'-CGGGAACACGGTGCCRTGDAT RAA-3') /*Rhd GP-R* (5'-GGGGAACACGGTGCCRTGDAT-3') para bactérias gram-positivas (Cébron et al., 2008). Os iniciadores *pahE* amplificam o gene *pahE*, que codifica enzimas envolvidas na oxidação inicial dos anéis aromáticos durante a degradação de HPA, enquanto os iniciadores *Rhd* amplificam genes *rhd* que codificam dioxigenases do tipo Rieske, associadas às etapas iniciais da degradação aeróbia de hidrocarbonetos aromáticos. As condições de amplificação foram as mesmas descritas para a identificação das estirpes isoladas (item 4.4).

5. RESULTADOS

5.1 Características das áreas de amostragem

As características físico-químicas dos oito locais de coleta estão descritas na Tabela 2. A salinidade da água variou entre 3,0% em NIT e 3,5% em ARP. O valor de pH foi 8 para as amostras provenientes de MAR e NIT, enquanto nas demais praias o pH foi igual a 7. A menor temperatura do ar registrada ocorreu na URC, atingindo 17 °C, ao passo que a maior temperatura foi observada em GRU, com 32 °C (Tabela 2). Durante o período de amostragem, todas as praias foram classificadas como próprias para banho, de acordo com os dados de balneabilidade divulgados pelo Instituto Estadual do Ambiente do Rio de Janeiro (INEA).

Tabela 2 – Características físico-químicas da água do mar, registradas no momento da coleta de água, incluindo temperatura da água e do ar, salinidade e pH.

Praia (código)	Temperatura da água (°C)	Temperatura do ar (°C)	pH	Salinidade (%)
Arpoador (ARP)	24	28	7	3,5
Grumari (GRU)	26	32	7	3,4
Itacuruçá (ITA)	23	24	7	3,2
Sahy (SAH)	23	23	7	3,3
Vermelha (URC)	22	17	7	3,1
Itaipuaçu (MAR)	23	25	8	3,1
Ferradura (BUZ)	21	21	7	3,2
Itaipu (NIT)	26	29	8	3,0

5.2 Isolamento e identificação de estirpes bacterianas

Após a incubação dos microcosmos contendo naftaleno à temperatura ambiente por 14 dias, foram obtidos 231 isolados, correspondendo a um mínimo de 27 estirpes por amostra de água. A identificação molecular indicou que as bactérias isoladas pertenciam a 35 gêneros distintos, dos quais: 13 gêneros foram encontrados em ARP, 11 gêneros em ITA e SAH, 10 gêneros em GRU e MAR, 9 gêneros em NIT, 8 gêneros em BUZ e 5 gêneros em URC (Figura

3). Todas as sequências bacterianas foram depositadas no Sequence Read Archive (SUB13695071) do banco de dados NCBI.

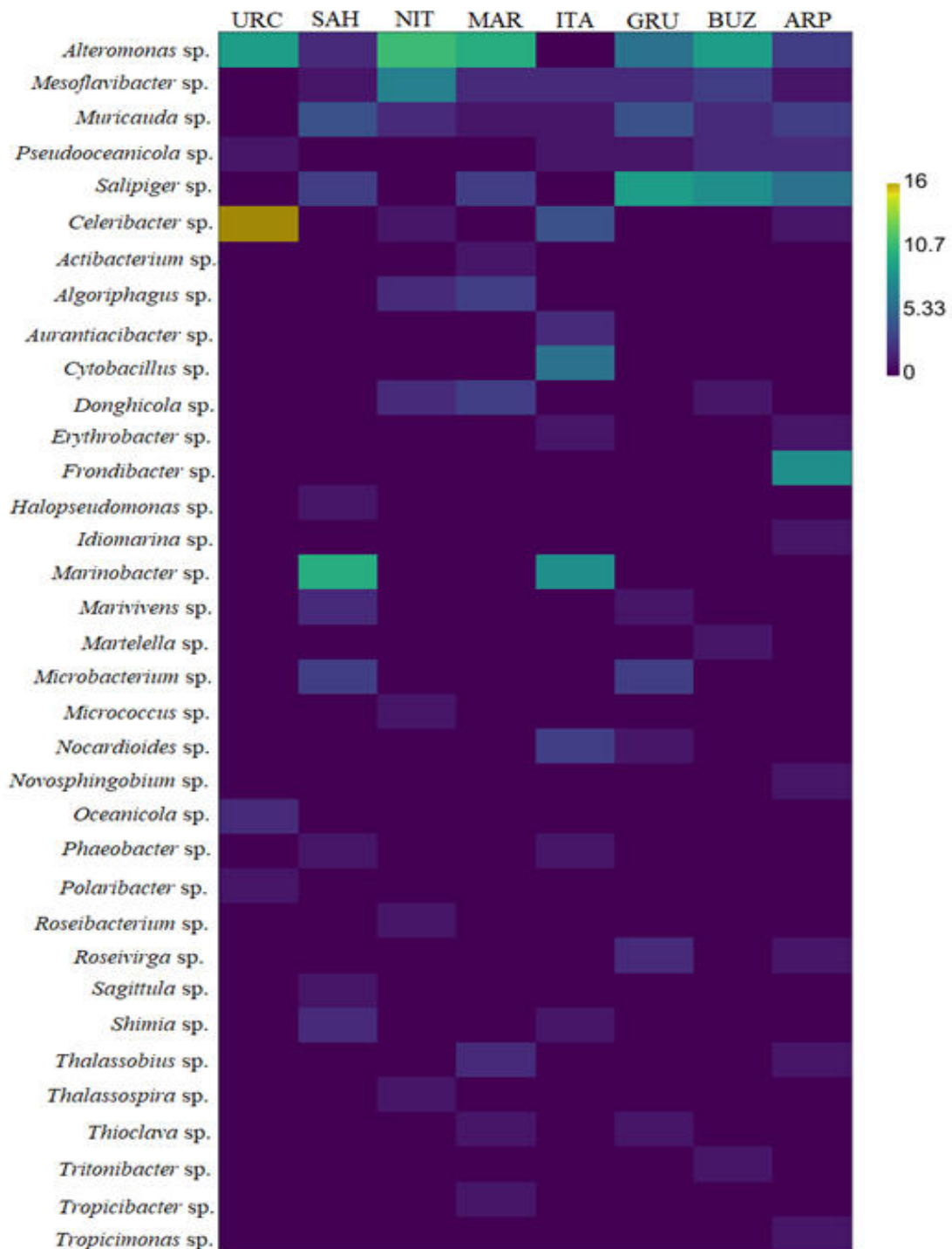


Figura 3 – Mapa de calor representando a abundância de cada estirpe bacteriana isolada nas oito praias estudadas. Cores mais quentes (tons de amarelo) representam maior abundância e cores mais frias (tons de roxo) representam menor abundância de estirpes. O índice de similaridade de Bray–Curtis foi aplicado para avaliar a proximidade entre as comunidades bacterianas dos diferentes locais de amostragem, permitindo visualizar padrões de distribuição e ocorrência entre as áreas costeiras estudadas.

Conforme mostrado na Figura 3, alguns gêneros foram isolados apenas em poucas amostras de água. Por exemplo, *Frondebacter sp.*, *Novosphingobium sp.*, *Tropicimonas sp.* e

Idiomarina sp. foram encontrados somente em ARP. *Aurantiacibacter* sp. e *Cytobacillus* sp. foram isolados exclusivamente em ITA. *Algoriphagus* sp. foi detectado em MAR e NIT. SAH e ITA foram as únicas praias onde *Marinobacter* sp., *Shimia* sp. e *Phaeobacter* sp. foram encontrados. *Oceanicola* sp. e *Polaribacter* sp. apareceram apenas em URC. Já os gêneros *Micrococcus* sp., *Thalassospira* sp. e *Roseibacterium* sp. foram isolados apenas em NIT (Figura 3).

Por outro lado, estirpes pertencentes a determinados gêneros foram encontrados em pelo menos metade das praias estudadas: *Mesoflavibacter* sp. e *Muricauda* sp. estavam presentes em sete praias (exceto URC); *Alteromonas* sp. foi detectado em 7 das 8 áreas analisadas (não encontrado em ITA); *Salipiger* sp. foi encontrado em 5 praias (exceto ITA, NIT e URC); *Pseudoceanicola* sp. foi encontrado em ARP, BUZ, GRU, ITA e URC; e *Celeribacter* sp. foi detectado em 4 praias (ARP, ITA, NIT e URC) (Figura 3).

5.3 Teste de degradação de naftaleno e amplificação de genes associados à degradação de HPA

Dezessete estirpes apresentaram resultado positivo no teste de degradação de naftaleno, sendo estas pertencentes aos gêneros *Salipiger*, *Pseudoceanicola*, *Alteromonas*, *Marinobacter*, *Cytobacillus*, *Micrococcus*, *Microbacterium* e *Halopseudomonas* (Tabela 3).

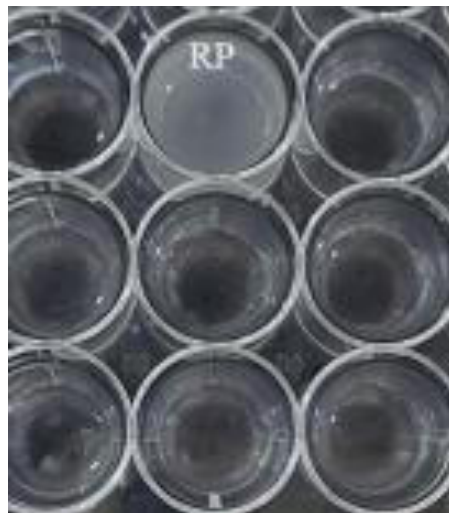


Figura 4 – Exemplo de resultado do experimento de degradação de naftaleno (adaptado de Santaren, 2025).
Legenda: RP: resultado positivo para o teste.

Com base na identificação das estirpes que demonstraram potencial para degradar o naftaleno, foram selecionados iniciadores específicos para a amplificação de genes relacionados à degradação de hidrocarbonetos. Como as bactérias *Cytobacillus* (ITA 30 e ITA 34), *Micrococcus* (NIT 15) e *Microbacterium* (SAH 15) são gram-positivas, foi utilizado o

iniciador *Rhd GP*. Já as demais estirpes, como pertencem a gêneros constituídos de bactérias gram-negativas, foi empregado o iniciador *Rhd GN*.

Além disso, para Proteobacteria, também foram utilizados iniciadores mais específicos: o iniciador *pahE2* foi aplicado para Alphaproteobacteria — *Salipiger* (ARP 20 e SAH 13) e *Pseudoceanicola* (BUZ 2); enquanto o iniciador *pahE1* foi direcionado às Gammaproteobacteria — *Halopseudomonas* (SAH 29), *Alteromonas* (ARP 24, GRU 12, URC 28) e *Marinobacter* (ITA 10, ITA 20, ITA 29, SAH 14, SAH 27, SAH 32).

A amplificação por PCR dos genes associados à degradação de HPA revelou que 8 das 17 estirpes testadas apresentaram resultados positivos para a presença desses genes (Tabela 3).

5.4 Testes de emulsificação, deslocamento de óleo e colapso de gota

Dentre as 231 estirpes analisadas, 18 apresentaram índice de emulsificação (E24) variando entre 40 e 72,1% (Tabela 3). Essas estirpes pertencem aos gêneros *Idiomarina*, *Alteromonas*, *Roseivirga*, *Marinobacter*, *Cytobacillus*, *Celeribacter* e *Pseudoceanicola*.

Os maiores valores de emulsificação foram observados nas estirpes dos gêneros *Idiomarina* sp. (ARP 22) e *Alteromonas* sp. (BUZ 8, URC 28 e URC 30), com índices superiores a 69% (Tabela 3). Entre as 18 estirpes avaliadas, seis apresentaram resultados positivos tanto no teste de colapso de gota quanto no de deslocamento de óleo: *Pseudoceanicola* sp. (ARP 21), *Idiomarina* sp. (ARP 22), *Alteromonas* sp. (ARP 24), *Roseivirga* sp. (GRU 24), *Marinobacter* sp. (ITA 27) e *Cytobacillus* sp. (ITA 30) (Tabela 3).

Por fim, as estirpes *Pseudoceanicola* sp. (BUZ 2), *Cytobacillus* sp. (ITA 30 e ITA 34) e *Alteromonas* sp. (ARP 24 e URC 28) demonstraram potencial para degradar naftaleno e para produzir bioemulsificantes e/ou biosurfactantes (Tabela 3).

Tabela 3 – Estirpes bacterianas apresentando resultados positivos para degradação de naftaleno e/ou emulsificação de hexadecano (E24 maior ou igual a 40%). Legenda: Negativo (-); Positivo (+), Não testado (Nt).

Código da estirpe	Praia	Gênero	Teste de degradação	E24 média	Teste de deslocamento de óleo e colapso da gota	PCR
ARP 20	Arpoador	<i>Salipiger</i> sp.	+	-	Nt	+
ARP 21	Arpoador	<i>Pseudoceanicola</i> sp.	-	58,3%	+	Nt
ARP 22	Arpoador	<i>Idiomarina</i> sp.	-	70,6%	+	Nt
ARP 24	Arpoador	<i>Alteromonas</i> sp.	+	40%	+	-
ARP 29	Arpoador	<i>Celeribacter</i> sp.	-	60%	-	Nt
ARP 31	Arpoador	<i>Alteromonas</i> sp.	-	59%	-	Nt
BUZ 1	Ferradura	<i>Alteromonas</i> sp.	-	66,3%	+	Nt

BUZ 2	Ferradura	<i>Pseudoceanicola</i> sp.	+	58%	-	-
BUZ 8	Ferradura	<i>Alteromonas</i> sp.	-	69,3%	+	Nt
GRU 12	Grumari	<i>Alteromonas</i> sp.	+	-	Nt	-
GRU 24	Grumari	<i>Roseivirga</i> sp.	-	50,4%	+	Nt
ITA 10	Itacuruçá	<i>Marinobacter</i> sp.	+	-	Nt	+
ITA 20	Itacuruçá	<i>Marinobacter</i> sp.	+	-	Nt	-
ITA 25	Itacuruçá	<i>Marinobacter</i> sp.	-	61,6%	-	Nt
ITA 27	Itacuruçá	<i>Marinobacter</i> sp.	-	52,9%	+	Nt
ITA 28	Itacuruçá	<i>Marinobacter</i> sp.	-	59,3%	-	Nt
ITA 29	Itacuruçá	<i>Marinobacter</i> sp.	+	-	Nt	-
ITA 30	Itacuruçá	<i>Cytobacillus</i> sp.	+	67%	+	+
ITA 34	Itacuruçá	<i>Cytobacillus</i> sp.	+	61%	-	+
NIT 15	Itaipu	<i>Micrococcus</i> sp.	+	-	Nt	-
SAH 13	Sahy	<i>Salipiger</i> sp.	+	-	Nt	-
SAH 14	Sahy	<i>Marinobacter</i> sp.	+	-	Nt	+
SAH 15	Sahy	<i>Microbacterium</i> sp.	+	-	Nt	-
SAH 27	Sahy	<i>Marinobacter</i> sp.	+	-	Nt	-
SAH 29	Sahy	<i>Halopseudomonas</i> sp.	+	-	Nt	+
SAH 32	Sahy	<i>Marinobacter</i> sp.	+	-	Nt	+
SAH 33	Sahy	<i>Marinobacter</i> sp.	-	48,5%	-	Nt
URC 27	Vermelha	<i>Celeribacter</i> sp.	-	63,4%	-	Nt
URC 28	Vermelha	<i>Alteromonas</i> sp.	+	71%	-	+
URC 30	Vermelha	<i>Alteromonas</i> sp.	-	72,1%	-	Nt

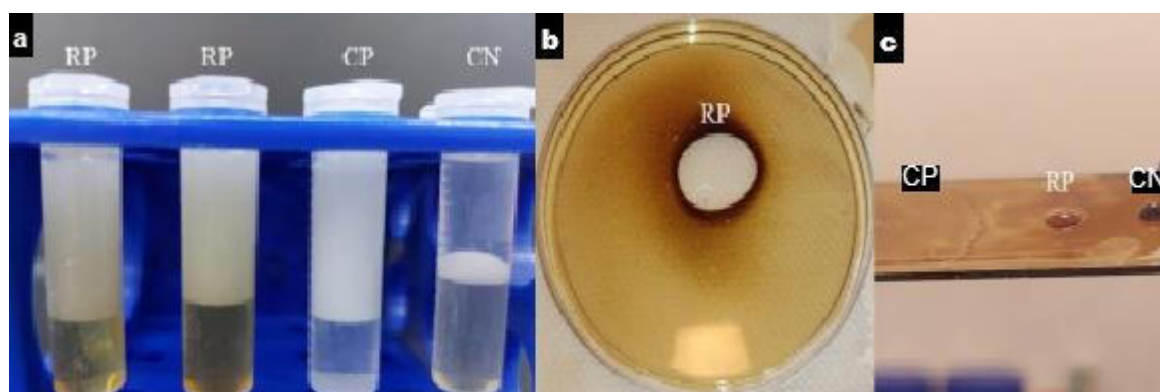


Figura 5 – Exemplos de resultados dos experimentos descritos no tópico 5.4: a. Teste de emulsificação; b. Teste de deslocamento de óleo; c. Teste do colapso da gota (adaptado de Santaren, 2025). Legenda: CP: controle positivo; CN: controle negativo; RP: resultado positivo para o teste.

6. DISCUSSÃO

Neste estudo, foram analisadas amostras de água coletadas em oito praias do estado do Rio de Janeiro, buscando isolar e caracterizar bactérias com capacidade de tolerar e/ou degradar o naftaleno – modelo de HPA, incluindo aquelas produtoras de bioemulsificantes ou biosurfactantes. As praias amostradas pertencem a diferentes regiões da costa fluminense, sendo que as mais distantes entre si, SAH e BUZ, encontram-se separadas por aproximadamente 160 quilômetros.

Nos locais amostrados, a salinidade variou entre 3,0 % e 3,5%, e o pH apresentou valores neutros a levemente alcalinos (7–8), condições compatíveis com a atividade de bactérias marinhas degradadoras de hidrocarbonetos. Segundo Das e Chandran (2011), a presença de microrganismos com capacidades metabólicas adequadas, combinada com nutrientes, oxigênio e pH favorável (entre 6 e 9), é essencial para manter taxas ótimas de crescimento e biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo. Em experimentos com microcosmos contendo água do mar, observou-se que gêneros frequentemente envolvidos na degradação de hidrocarbonetos, como *Marinobacter*, predominam em salinidades em torno de 4 %, ao passo que variações extremas de salinidade tendem a afetar negativamente o metabolismo microbiano (Martins e Peixoto, 2012; Jurelevicius et al., 2013). Assim, os dados de salinidade e pH observados nas praias estudadas sugerem que essas condições são favoráveis para a presença e atuação de microrganismos com potencial de biorremediação de hidrocarbonetos.

A aplicação de processos de biorremediação tem sido considerada em diferentes contextos como uma alternativa ecológica em potencial para lidar com os efeitos de derramamentos de óleo (Gogoi et al., 2025). Diversas bactérias têm sido amplamente estudadas por seu papel essencial na degradação de compostos derivados do petróleo, já que muitas estirpes bacterianas de diversas espécies possuem vias metabólicas capazes de utilizar hidrocarbonetos como fonte de carbono e energia, promovendo a remoção natural desses poluentes em ambientes contaminados (Martínez-Rivera e Cardona-Gallo, 2021; Prartono et al., 2022).

A detecção de dezessete estirpes com potencial para a degradação de naftaleno, pertencentes aos gêneros *Salipiger*, *Pseudoceanicola*, *Alteromonas*, *Marinobacter*, *Cytobacillus*, *Micrococcus*, *Microbacterium* e *Halopseudomonas*, indica que tanto microrganismos tradicionalmente conhecidos pela degradação de HPA quanto grupos menos estudados podem contribuir para a remoção de compostos aromáticos em ambientes marinhos.

Alteromonas, *Marinobacter*, *Micrococcus* e *Microbacterium* são gêneros cujas estirpes têm demonstrado potencial para degradar HPA, com evidências tanto em análises genômicas quanto em experimentos realizados em ecossistemas marinhos contaminados. Estudos mostram que essas bactérias podem atuar em diferentes frações de HPA, contribuindo para a redução de poluentes em sedimentos costeiros ou até mesmo ambientes hipersalinos. A combinação de dados genômicos e testes de degradação *in vitro* reforça seu potencial metabólico e sugere que essas estirpes podem ser componentes importantes de consórcios microbianos voltados à mitigação de hidrocarbonetos aromáticos em ambientes marinhos (Sheng et al., 2009; Ifeanyi e Ihenatuoha, 2011; Jin et al., 2012; Ahmad et al., 2021; Fan et al., 2022; Jamal, 2022; Logeshwaran et al., 2022; Iriani, Allison e Bugg, 2025).

Salipiger e *Pseudoceanicola* são gêneros cujas capacidades de degradar HPA ainda são pouco exploradas, com poucos estudos relatando sua atuação em ambientes marinhos (Lai et al., 2015; Louvado et al., 2015; Yani et al., 2020; Li et al., 2023). De forma semelhante, *Halopseudomonas* e *Cytobacillus* apresentam evidências ainda mais limitadas de participação na degradação de HPA (Rojas-Vargas et al., 2024; Alim et al., 2025). Essa limitação pode estar relacionada às recentes reclassificações desses gêneros, que reorganizaram espécies anteriormente atribuídas aos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, respectivamente (Patel e Gupta, 2020; Rudra e Gupta, 2021). Apesar do potencial indicado, são necessários mais estudos experimentais e genômicos para melhor compreender a capacidade desses gêneros na degradação de HPA em ecossistemas marinhos.

Os resultados positivos observados tanto no ensaio fenotípico de degradação de naftaleno quanto na PCR são consistentes com a literatura e indicam que essas estirpes apresentam vias metabólicas bem definidas para a degradação de HPA. Estudos com *Salipiger* demonstram que espécies desse gênero, isoladas de consórcios enriquecidos com HPA, possuem não apenas a capacidade funcional de degradar compostos aromáticos, mas também evidências genéticas dessa atividade, com a identificação de genes envolvidos nas etapas iniciais da oxidação do anel aromático (Li et al., 2023).

De forma semelhante, espécies de *Marinobacter* são amplamente descritas como portadoras de clusters gênicos do tipo *nah* e *pah*, associados à codificação de dioxigenases responsáveis pela ativação do naftaleno, enquanto *Alteromonas* tem sido apontada como um gênero-chave na biodegradação de HPA em ambientes marinhos, com detecção consistente de genes de dioxigenases e atividade degradadora tanto *in vitro* quanto em condições ambientais (Jin et al., 2012; Wang et al., 2017).

Por outro lado, a ocorrência de degradação *in vitro* em estirpes que não apresentaram amplificação por PCR é compatível com o que tem sido descrito na literatura. Marcadores funcionais como *pahE* são amplamente utilizados, porém não abrangem toda a diversidade genética envolvida na degradação de HPA, de modo que variações nas sequências gênicas podem impedir o pareamento adequado dos iniciadores e resultar em falsos negativos. Além disso, alguns microrganismos podem utilizar enzimas ou vias metabólicas alternativas para degradar o naftaleno, que não são detectadas pelos iniciadores empregados neste estudo, o que explica a discordância entre os resultados fenotípicos e moleculares observados (Liang et al., 2019a; Vogel et al., 2024).

Além da degradação de hidrocarbonetos, a produção de bioemulsificantes e biosurfactantes por microrganismos é fundamental na biorremediação, pois amplia a biodisponibilidade de poluentes hidrofóbicos e favorece sua remoção de ambientes contaminados (Sharma, Lavania e Lal, 2021).

Nesse sentido, os gêneros *Marinobacter*, *Alteromonas*, *Cytobacillus* e *Pseudoceanicola* também apresentaram resultados positivos no teste de emulsificação, com índices variando entre 40 e 72%. Na literatura, há evidências que reforçam potencial de produção de bioemulsificantes e biosurfactantes de estirpes pertencente aos três primeiros gêneros (Dikit, Maneerat e Saimmai, 2019; Concórdio-Reis et al., 2021; Kalumbe e Pawar, 2025). Contudo, para *Pseudoceanicola*, ainda não há relatos disponíveis sobre a produção desses compostos, tornando relevante a investigação de estirpes pertencentes a esse gênero, como das estirpes ARP 21, que demonstrou atividade emulsificante, e BUZ 2, que além de produzir, também apresentou resultado positivo no teste de degradação de naftaleno.

A frequência de estirpes pertencentes a determinados gêneros bacterianos entre as praias analisadas, mesmo diante da distância geográfica entre os pontos de coleta, revela um padrão ecológico relevante. A presença de *Alteromonas*, *Salipiger* e *Pseudoceanicola* em diferentes locais indica que esses microrganismos possuem ampla distribuição em ambientes marinhos costeiros, conseguindo persistir em condições típicas desse ecossistema. Essa recorrência, aliada ao potencial de degradação de HPA e à habilidade de produzir bioemulsificantes e biosurfactantes observada em algumas estirpes, como a BUZ 2 e a ARP 24, sugere que esses grupos microbianos podem desempenhar papel importante na atenuação natural desses compostos em ecossistemas marinhos.

Embora não tenham apresentado atividade nos testes realizados neste estudo, estirpes pertencentes aos gêneros *Mesoflavibacter* e *Muricauda* foram detectadas em sete das oito praias amostradas, indicando ampla distribuição nos ambientes marinhos estudados. Evidências na

literatura mostram que estirpes desses gêneros podem possuir genes funcionais relacionados à degradação de hidrocarbonetos, incluindo compostos aromáticos, e já foram associadas a locais impactados por derramamentos de óleo, como observações na costa europeia e em amostras do Rio de Janeiro contaminadas com heptadecano e petróleo bruto (Jurelevicius et al., 2013; Acosta-González et al., 2015; Peeb et al., 2022).

A ampla distribuição de gêneros como *Alteromonas*, *Salipiger*, *Pseudoceanicola*, *Mesoflavibacter* e *Muricauda* nas praias estudadas, aliada ao potencial de degradação de HPA e à capacidade de produzir bioemulsificantes ou biosurfactantes neste estudo ou relatado na literatura, sugere que esses microrganismos não apenas desempenham papel funcional importante em ecossistemas marinhos, mas também apresentam características que os tornam relevantes na seleção de possíveis indicadores de contaminação. A frequência elevada desses gêneros favorece a detecção de respostas microbianas típicas da exposição a hidrocarbonetos, como alterações na abundância relativa, mudanças na estrutura da comunidade e aumento na expressão de genes associados à degradação (Rahmati et al., 2022), indicando que podem ser considerados candidatos promissores para estudos voltados à identificação de potenciais biomarcadores em programas de biomonitoramento ambiental.

A partir dessa perspectiva, o biomonitoramento microbiano tem sido reconhecido como uma abordagem sensível para a avaliação de contaminação por petróleo, uma vez que comunidades bacterianas respondem rapidamente à presença de hidrocarbonetos por meio de alterações na composição taxonômica, na abundância relativa de grupos funcionais e na expressão de genes associados à degradação. Diferentemente de parâmetros físico-químicos pontuais, essas respostas biológicas refletem tanto a exposição quanto o impacto ecológico dos contaminantes ao longo do tempo, tornando os microrganismos indicadores eficientes de pressão ambiental em ecossistemas aquáticos e marinhos (Kumar et al., 2024; Liu et al., 2024).

Sob esse enfoque, a recorrência de gêneros como *Alteromonas*, *Salipiger* e *Pseudoceanicola* em diferentes praias analisadas neste estudo reforça seu potencial como bioindicadores de contaminação por petróleo. Esses grupos são frequentemente descritos como bactérias oportunistas, capazes de responder rapidamente ao enriquecimento por hidrocarbonetos, apresentando aumento significativo de abundância em ambientes impactados por óleo. Assim, variações espaciais e temporais na ocorrência desses gêneros têm sido associadas ao grau de impacto ambiental e à dinâmica de recuperação de ecossistemas costeiros, refletindo processos de pressão e atenuação natural relacionados à poluição por petróleo (Rahmati et al., 2022; Liu et al., 2024; Bayatian, Pourbabae e Amoozegar, 2025).

Além disso, a associação entre a capacidade de degradação de HPA, a produção de bioemulsificantes e a ampla distribuição geográfica observada em algumas estirpes sugere que esses microrganismos podem atuar não apenas como agentes de atenuação natural, mas também como ferramentas de biomonitoramento funcional. A detecção recorrente desses grupos, aliada à identificação de respostas metabólicas específicas, permite inferir tanto a presença de hidrocarbonetos quanto o estado funcional do ecossistema, fornecendo informações relevantes para programas de monitoramento ambiental baseados em indicadores biológicos e para a avaliação da eficácia de estratégias de biorremediação (Martins, Costa e Bianchini, 2023; Pérez-Vázquez et al., 2024).

O destaque para as estirpes *Pseudoceanicola* sp. BUZ 2 e *Alteromonas* sp. ARP 24 e URC 28, que combinaram o potencial de degradação de hidrocarbonetos com a produção de emulsificantes, reforça a relevância desses isolados como candidatos promissores para estratégias de biorremediação. Essa capacidade de degradar compostos hidrofóbicos e aumentar sua biodisponibilidade é especialmente vantajosa em ambientes marinhos, onde a dispersão dos poluentes é influenciada por uma série de fatores físico-químicos complexos, como salinidade, temperatura, turbulência, pressão e presença de partículas em suspensão, que afetam a solubilidade e a disponibilidade dos hidrocarbonetos para degradação microbiana (Das e Chandran, 2011).

A caracterização das estirpes neste estudo representa, portanto, um avanço significativo na investigação da diversidade microbiana marinha associada à degradação de HPA e produção de bioemulsificantes/biossurfactantes. A partir desse estudo foi selecionada uma coleção de culturas com potencial biotecnológico para futuras investigações e aplicações em estratégias de biorremediação e biomonitoramento, particularmente em regiões tropicais sujeitas à contaminação por petróleo e seus derivados.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que diferentes gêneros demonstraram potencial para a degradação de HPA ou para a produção de biossurfactantes e/ou bioemulsificantes, com alguns se destacando de forma particularmente interessante. *Alteromonas*, *Pseudoceanicola* e *Salipiger* apresentaram ampla distribuição nas praias estudadas e desempenhos relevantes diante dos hidrocarbonetos avaliados. Entre eles, estirpes de *Alteromonas* e *Pseudoceanicola* mostraram capacidade consistente de associar a degradação de HPA à produção de compostos dispersantes, enquanto *Salipiger* contribuiu de maneira expressiva pela eficiência na degradação de HPA. Esses resultados reforçam o papel estratégico desses grupos microbianos na atenuação de poluentes hidrofóbicos em ambientes marinhos. Assim, esse estudo contribui para a formação de uma coleção de culturas com valor biotecnológico e colabora para futuras pesquisas que explorem sua aplicação para a biorremediação e biomonitoramento de ambientes marinhos, que representam estratégias sustentáveis de mitigação de impactos ambientais decorrentes de derramamentos de petróleo e seus derivados.

8. REFERÊNCIAS

- Acosta-González, A., Abercron, S.-M. M., Rosselló-Móra, R., Wittich, R.-M. e Marqués, S. (2015). The effect of oil spills on the bacterial diversity and catabolic function in coastal sediments: a case study on the Prestige oil spill. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 15200–15214.
- Ahmad, M., Ling, J., Zhang, Y., Sajjad, W., Yang, Q., Zhou, W. e Dong, J. (2021). Effect of pyrene and phenanthrene in shaping bacterial communities in seagrass meadows sediments. *Archives of Microbiology*, 203, 4259–4272.
- Alim, M. B., Oves, M., Jamal, M. T. e Kunarso, K. (2025). Comparative hydrocarbon biodegradation by *Bacillus haikouensis* and *Cytobacillus kochii*: pure culture versus consortium performance. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 19, 2069–2086.
- Alló, M. e Loureiro, M. (2013). Estimating a meta-damage regression model for large accidental oil spills. *Ecological Economics*, 86, 167–175.
- ANP (2024). Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Relatório Anual de Segurança Operacional das Atividades de Exploração e Produção de Petróleo e Gás Natural de 2023. Rio de Janeiro: ANP. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/exploracao-e-producao-de-oleo-e-gas/seguranca-operacional/arq/raso/2023-relatorio-anual-seguranca-operacional.pdf>. Acesso em 18/06/2025.
- Banat, I.M., Satpute, S.K., Cameotra, S.S., Patil, R. e Nyayanit, N.V. (2014). Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants production. *Frontiers in Microbiology*, 5, 697.
- Bayatian, M., Pourbabae, A. A. e Amoozegar, M. A. (2025). Revealing the composition of bacterial communities in various oil-contaminated soils and investigating their intrinsic traits in hydrocarbon degradation. *Scientific Reports*, 15(1), 22016.
- Bekins, B. A., Brennan, J. C., Tillitt, D. E., Cozzarelli, I. M., Illig, J. M. e Martinović-Weigelt, D. (2020). Biological effects of hydrocarbon degradation intermediates: is the total petroleum hydrocarbon analytical method adequate for risk assessment? *Environmental Science & Technology*, 54, 11396–11404.
- Beyer, J., Trannum, H.C., Bakke, T., Hodson, P.V. e Collier, T.K. (2016). Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 28–51.
- Bukowska, B. e Sicińska, P. (2021). Influence of benzo(a)pyrene on different epigenetic processes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 13453.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N. e Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 4516–4522.
- Cardoso, A. D. G. B. (2022). Desenvolvimento de biomarcadores para detecção da presença de hidrocarbonetos em ambientes marinhos do Rio de Janeiro. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia) – Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Carlos, L. M., Camacho, K. F., Duarte, A. W., Oliveira, V. M., Boroski, M., Rosa, L. H., Vieira, R., Neto, A. A., Ottoni, J. R. e Passarini, M. R. Z. (2023). Bioprospecting the potential of the microbial community associated to Antarctic marine sediments for hydrocarbon bioremediation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54, 471–485.
- Cébron, A., Norini, M. P., Beguiristain, T. e Dubois, E. (2008). Real-time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase genes from Gram positive and Gram-negative bacteria in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Microbiological Methods*, 73, 148–159.
- Concórdio-Reis, P., Alves, V. D., Moppert, X., Guézennec, J., Freitas, F. e Reis, M. A. (2021). Characterization and biotechnological potential of extracellular polysaccharides synthesized by *Alteromonas* strains isolated from French Polynesia marine environments. *Marine Drugs*, 19, 522.

- Cooper, D. G. e Goldenberg, B. G. (1987). Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 224–229.
- Court, C., Hodges, A. W., Coffey, K., Ainsworth, C. H. e Yoskowitz, D. (2020). Effects of the Deepwater Horizon oil spill on human communities: catch and economic impacts. In: *Deep Oil Spills: Facts, Fate, and Effects*. Murawski, S. A., Ainsworth, C. H., Gilbert, S., Hollander, D. J., Paris, C. B., Schlüter, M. e Wetzell, D. L., eds. (Cham, Springer), pp. 569–580.
- Das, N. e Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 941810.
- Dave, D. e Ghaly, A. E. (2011). Remediation technologies for marine oil spills: a critical review and comparative analysis. *American Journal of Environmental Sciences*, 7, 423–440.
- Davletgildeeva, A. T. e Kuznetsov, N. A. (2024). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by means of bacteria and bacterial enzymes. *Microorganisms*, 12(9), 1814.
- Dhaka, A. e Chattopadhyay, P. (2021). A review on physical remediation techniques for treatment of marine oil spills. *Journal of Environmental Management*, 288, 112428.
- Dikit, P., Maneerat, S. e Saimmai, A. (2019). The effective emulsifying property of biosurfactant-producing *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* ST1 obtained from palm oil contaminated sites. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 55, 615–625.
- Ekperusi, A. O., Onyena, A. P., Akpudo, M. Y., Peter, C. C., Akpoduado, C. O. e Ekperusi, O. H. (2019). In-situ burning as an oil spill control measure and its effect on the environment. In: *Anais do SPE Nigeria Annual International Conference and Exhibition, Lagos, Nigéria*, p. D023S025R005.
- ENERGY INSTITUTE (2024). *The Energy Institute Statistical Review of World Energy (74. ed.)*. Disponível em: <https://www.energyinst.org/statistical-review>. Acesso em 15/06/2025.
- Estevo, M. de O., Lopes, P. F. M., de Oliveira Júnior, J. G. C., Junqueira, A. B., de Oliveira Santos, A. P., da Silva Lima, J. A., Malhado, A. C. M., Ladle, R. J. e Campos-Silva, J. V. (2021). Immediate social and economic impacts of a major oil spill on Brazilian coastal fishing communities. *Marine Pollution Bulletin*, 164, 111984.
- Fan, W., Jin, J., Zhang, Z., Han, L., Li, K. e Wang, C. (2022). Degradation of phenanthrene by consortium 5H under hypersaline conditions. *Environmental Pollution*, 308, 119730.
- García-García, R., Bocanegra-García, V., Vital-López, L., García-Mena, J., Zamora-Antuñano, M. A., Cruz-Hernández, M. A., Rodríguez-Reséndiz, J. e Mendoza-Herrera, A. (2023). Assessment of the microbial communities in soil contaminated with petroleum using next-generation sequencing tools. *Applied Sciences*, 13, 6922.
- Gogoi, R., Bora, S. S., Gogoi, B., Naorem, R. S. e Barooah, M. (2025). Insights into the microbial diversity and functionalities of potential hydrocarbon-degrading bioremediation agents in oil spill sludge of Assam, India. *Archives of Microbiology*, 207, 1–15.
- Guermouche, A. M., Bensalah, F., Gury, J. e Duran, R. (2015). Isolation and characterization of different bacterial strains for bioremediation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 15332–15346.
- Haritash, A. K. e Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of Hazardous Materials*, 169, 1–15.
- Hasan, A. M. A., Kamal, R. S., Farag, R. K. e Abdel Raouf, M. E. (2024). Petroleum sludge formation and its treatment methodologies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 8369–8386.
- IBP (2025). Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás. *Panorama Geral do Setor de O&G: Uma Agenda para o Futuro*. Rio de Janeiro: IBP. Disponível em: <https://www.ibp.org.br/publicacoes/panorama-geral-do-setor-de-oleo-e-gas-uma-agenda-para-o-futuro/>. Acesso em 15/06/2025.

- Ifeanyi, V. O. e Ihenatuoha, U. A. (2011). Effects of the consortium of *Pseudomonas*, *Bacillus* and *Micrococcus* spp. on polycyclic aromatic hydrocarbons in crude oil. *Nigerian Journal of Biotechnology*, 22, 28–33.
- Iriani, P., Allison, G. G. e Bugg, T. D. (2025). Degradation of brown coal and 1-methylnaphthalene by a *Micrococcus luteus* isolate: investigation of a novel aromatic degradation gene cluster containing *paa* genes. *Journal of Applied Microbiology*, 136, 1xaf153.
- Ivshina, I. B., Kuyukina, M. S., Krivoruchko, A. V., Elkin, A. A., Makarov, S. O., Cunningham, C. J., Peshkur, T. A., Atlas, R. M. e Philp, J. C. (2015). Oil spill problems and sustainable response strategies through new technologies. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17, 1201–1219.
- Jain, D. K., Collins-Thompson, D. L., Lee, H. e Trevors, J. T. (1991). A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 13, 271–279.
- Jamal, M. T. (2022). Enrichment of potential halophilic *Marinobacter* consortium for mineralization of petroleum hydrocarbons and also as oil reservoir indicator in Red Sea, Saudi Arabia. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 42, 400–411.
- Jin, H. M., Kim, J. M., Lee, H. J., Madsen, E. L. e Jeon, C. O. (2012). *Alteromonas* as a key agent of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in crude oil-contaminated coastal sediment. *Environmental Science & Technology*, 46, 7731–7740.
- Jin, H. M., Kim, K. H. e Jeon, C. O. (2015). *Alteromonas naphthalenivorans* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from tidal-flat sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 4208–4214.
- Jurelevicius, D., Alvarez, V. M., Marques, J. M., de Sousa Lima, L. R. F., Dias, F. D. A. e Seldin, L. (2013). Bacterial community response to petroleum hydrocarbon amendments in freshwater, marine, and hypersaline water-containing microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 5927–5935.
- Kalumbe, A. A. e Pawar, S. T. (2025). Isolation and characterization of biosurfactant-producing *Cytobacillus oceanisediminis* MS-05A. *International Journal of Plant and Environment*, 11, 279–288.
- Kanally, R. A. e Harayama, S. (2000). Biodegradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology*, 182, 2059–2067.
- Kumar, K., Kumar, S., Shukla, S. P. e Bhamchari, R. K. (2024). "Microbial indicators of aquatic pollution". In *Handbook of aquatic microbiology*. CRC Press, 171-182.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Singh, S., Megharaj, M. e Naidu, R. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation potential, surfactant production, metal resistance and enzymatic activity of two novel cellulose-degrading bacteria isolated from koala faeces. *Environmental Earth Sciences*, 76, 14.
- Kwok, R. K., Engel, L. S., Miller, A. K., Blair, A., Curry, M. D., Jackson II, W. B., Stewart, P. A., Stenzel, M. R., Birnbaum, L. S., Sandler, D. P. e GuLF STUDY Research Team. (2017). The GuLF STUDY: a prospective study of persons involved in the Deepwater Horizon oil spill response and clean-up. *Environmental Health Perspectives*, 125, 570–578.
- Laffon, B., Pásaro, E. e Valdiglesias, V. (2016). Effects of exposure to oil spills on human health: updated review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 19, 105–128.
- Lai, Q., Li, G., Liu, X., Du, Y., Sun, F. e Shao, Z. (2015). *Pseudoceanicola atlanticus* gen. nov. sp. nov., isolated from surface seawater of the Atlantic Ocean and reclassification of *Oceanicola batsensis*, *Oceanicola marinus*, *Oceanicola nitratireducens*, *Oceanicola nanhaiensis*, *Oceanicola antarcticus* and *Oceanicola flagellatus*, as *Pseudoceanicola batsensis* comb. nov., *Pseudoceanicola marinus* comb. nov., *Pseudoceanicola nitratireducens* comb. nov., *Pseudoceanicola nanhaiensis* comb. nov., *Pseudoceanicola antarcticus* comb. nov., and *Pseudoceanicola flagellatus* comb. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107, 1065–1074.

- Li, J., Lai, Q., Hu, A., Liu, H., Qin, D., Yang, X., Tian, Y. e Yu, C. P. (2023). *Salipiger pentaromativorans* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from mangrove sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 73, 005716.
- Liang, C., Huang, Y. e Wang, H. (2019a). *pahE*, a functional marker gene for polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 85, 1–17.
- Liang, Y., Huang, X. e Wang, W. (2019b). Diversity and abundance of alkane hydroxylase genes in oil-contaminated marine sediments revealed by metagenomic analysis. *Environmental Pollution*, 251, 815–823.
- Lima, R.M.S.R., Zanetti, K., Krawulski, C.C., Trigueiro, R.M. e Luiz, L.A.C. (2014). Recursos naturais e fontes de energia. In: Suzuki Rosa Lima, M., Zanetti, K., Krawulski, C.C., Trigueiro, R.M., Luiz, L.A.C., orgs. (Londrina: Unopar), pp. 51–52.
- Liu, Q., He, W., Zhang, W., Wang, L. e Tang, J. (2024). Metagenomic analysis reveals the microbial response to petroleum contamination in oilfield soils. *Science of The Total Environment*, 912, 168972.
- Liu, Q., Tang, J., Bai, Z., Hecker, M. e Giesy, J. P. (2015). Distribution of petroleum degrading genes and factor analysis of petroleum contaminated soil from the Dagang Oilfield, China. *Scientific Reports*, 5, 11068.
- Logeshwaran, P., Subashchandrabose, S. R., Krishnan, K., Sivaram, A. K., Annamalai, P., Naidu, R. e Megharaj, M. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation by fenamiphos degrading *Microbacterium esteraromaticum* MM1. *Environmental Technology & Innovation*, 27, 102465.
- Louvado, A., Gomes, N. C. M., Simões, M. M. Q., Almeida, A. P., Cleary, D. F. R. e Cunha, A. (2015). Polycyclic aromatic hydrocarbons in deep sea sediments: microbe–pollutant interactions in a remote environment. *The Science of the Total Environment*, 526, 312–328.
- Macaulay, B.M. e Rees, D. (2014). Bioremediation of oil spills: a review of challenges for research advancement. *Annals of Environmental Science*, 8, 9–37.
- Mallah, M. A., Changxing, L., Mallah, M. A., Noreen, S., Liu, Y., Saeed, M., Xi, H., Ahmed, B., Feng, F., Mirjat, A. A., Wang, W., Jabar, A., Naveed, M., Li, J.-H. e Zhang, Q. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbon and its effects on human health: an overview. *Chemosphere*, 296, 133948.
- Martínez-Rivera, A. e Cardona-Gallo, S. A. (2021). Oil bioremediation in soils contaminated with oil spills in tropical environments. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93, e20201102.
- Martins, L. F. e Peixoto, R. S. (2012). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 865–872.
- Martins, M. F., Costa, P. G. e Bianchini, A. (2023). Bioaccumulation and potential impacts of persistent organic pollutants and contaminants of emerging concern in guitarfishes and angelsharks from Southeastern Brazil. *Science of the Total Environment*, 893, 164873.
- Masaki, T., Okazawa, M., Asano, R., Inagaki, T., Ishibashi, T., Yamagishi, A., Umeki-Mizushima, S., Nishimura, M., Manabe, Y., Ishibashi-Ueda, H., Shirai, M., Tsuchimochi, H., Pearson, J. T., Kumanogoh, A., Sakata, Y., Ogo, T., Kishimoto, T. e Nakaoka, Y. (2021). Aryl hydrocarbon receptor is essential for the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118, 11.
- Massol-Deya, A.A., Odelson, D.A., Hickey, R.F. e Tiedje, J.M. (1995). Bacterial community fingerprinting of amplified 16S and 16–23S ribosomal DNA gene sequences and restriction endonuclease analysis (ARDRA). In: Akkermans, A.D.L., Van Elsas, J.D., De Bruijn, F.J., eds. *Molecular Microbial Ecology Manual*. Dordrecht: Springer, pp. 289–296.
- Mohammed, S. A., Omar, T. J. e Hasan, A. H. (2023). Degradation of crude oil and pure hydrocarbon fractions by some wild bacterial and fungal species. *arXiv preprint arXiv:2301.08715*.
- Montano, L., Baldini, G. M., Piscopo, M., Liguori, G., Lombardi, R., Ricciardi, M., Esposito, G., Pinto, G., Fontanarosa, C., Spinelli, M., Palmieri, I., Sofia, D., Brogna, C., Carati, C., Esposito, M., Gallo, P., Amoresano, A. e Motta, O. (2025). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the environment: occupational exposure, health risks and fertility implications. *Toxics*, 13, 151.

- Moorthy, B., Chu, C. e Carlin, D. J. (2015). Polycyclic aromatic hydrocarbons: from metabolism to lung cancer. *Toxicological Sciences*, 145, 5–15.
- Morikawa, M., Hirata, Y. e Imanaka, T. (2000). A study on the structure–function relationship of lipopeptide biosurfactants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1488, 211–218.
- Mujumdar, S., Joshi, P. e Karve, N. (2020). Production, characterization, and applications of bioemulsifiers (BE) and biosurfactants (BS) produced by *Acinetobacter* spp.: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9, 2906–2919.
- Nelson, D. A., Crossley II, D. A., Mager, E. M., Stieglitz, J. D., Hoenig, R. H., Benetti, D. D., Grosell, M. e Scholz, N. L. (2016). Impacts of Deepwater Horizon crude oil exposure on adult mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) swim performance. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 2613–2622.
- Ossai, I. C., Ahmed, A., Hassan, A. e Hamid, F. S. (2020). Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: a review. *Environmental Technology & Innovation*, 17, 100526.
- Pandelides, Z., Sturgis, M. C., Thornton, C., Aluru, N. e Willett, K. L. (2023). Benzo [a] pyrene-induced multigenerational changes in gene expression, behavior, and DNA methylation are primarily influenced by paternal exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 469, 116545.
- Park, J.-H., Troxel, A. B., Harvey, R. G. e Penning, T. M. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) o-quinones produced by the aldo-keto-reductases (AKRs) generate abasic sites, oxidized pyrimidines, and 8-oxo-dGuo via reactive oxygen species. *Chemical Research in Toxicology*, 19, 719–728.
- Patel, S. e Gupta, R. S. (2020). A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 406–438.
- Peeb, A., Dang, N. P., Truu, M., Nõlvak, H., Petrich, C. e Truu, J. (2022). Assessment of hydrocarbon degradation potential in microbial communities in Arctic sea ice. *Microorganisms*, 10, 328.
- Penning, T. M., Burczynski, M. E., Chien Fu Hung, McCoull, K. D., Palackal, N. T. e Tsuruda, L. (1999). Dihydrodiol dehydrogenases and polycyclic aromatic hydrocarbon activation: generation of reactive and redox active o-quinones. *Chemical Research in Toxicology*, 12, 1–18.
- Pérez-Vázquez, A., Urionabarrenetxea, E., Artetxe, U., Rutkoski, C. F., Gomez-Sagasti, M. T., Garcia-Velasco, N. e Soto, M. (2024). Integrative assessment of in situ combined bioremediation strategies applied to remediate soils spilled with sewage sludges. *Frontiers in Environmental Science*, 12, 1370820.
- Pfeifer, G. P., Denissenko, M. F., Olivier, M., Tretyakova, N., Hecht, S. S. e Hainaut, P. (2002). Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene*, 21, 7435–7451.
- Prartono, T., Dwinovantyo, A., Syafrizal, S. e Syakti, A. D. (2022). Potential use of deep-sea sediment bacteria for oil spill biodegradation: a laboratory simulation. *Microorganisms*, 10, 1616.
- Purohit, B. K., Tewari, S., Prasad, K. S. N. V., Talari, V. K., Pandey, N., Choudhury, P. e Panda, S. S. (2024). Marine oil spill clean-up: a review on technologies with recent trends and challenges. *Regional Studies in Marine Science*, 103876.
- Rahmati, F., Asgari Lajayer, B., Shadfar, N., van Bodegom, P. M. e van Hullebusch, E. D. (2022). A review on biotechnological approaches applied for marine hydrocarbon spills remediation. *Microorganisms*, 10, 1289.
- Reizer, E., Viskolcz, B. e Fiser, B. (2022). Formation and growth mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons: a mini-review. *Chemosphere*, 291, 132793.
- Rojas-Vargas, J., Rebollar, E. A., Sanchez-Flores, A., e Pardo-López, L. (2024). A comparative genomic study of a hydrocarbon-degrading marine bacterial consortium. *Plos one*, 19(8), e0303363.
- Rudra, B., e Gupta, R. S. (2021). Phylogenomic and comparative genomic analyses of species of the family *Pseudomonadaceae*: Proposals for the genera *Halopseudomonas* gen. nov. and *Atopomonas* gen. nov., merger of

- the genus *Oblitimonas* with the genus *Thiopseudomonas*, and transfer of some misclassified species of the genus *Pseudomonas* into other genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(9), 005011.
- Ryu, J. Y. e Hong, D. H. (2024). Association of mixed polycyclic aromatic hydrocarbons exposure with oxidative stress in Korean adults. *Scientific Reports*, 14, 7511.
- Sakshi e Haritash, A.K. (2020). A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of PAH-degradation. *Archives of Microbiology*, 202(8), 2033–2058.
- Sandifer P.A., Ferguson, A., Finucane, M.L., Partyka, M., Solo-Gabriele, H.M Walker, A.H., Wowk, K., Caffey, R. e Yoskowitz, D. (2021). Human health and socioeconomic effects of the Deepwater Horizon oil spill in the Gulf of Mexico. *Oceanography*, 34(1), 174–191.
- Sandler, D., Engel, L., McGrath, J., Payne, J., Rose, K., Ekenga, C., Curry, M., Miller, A., Blair, A., Birnbaum, L. e Kwok, R. (2014). Respiratory symptoms in oil spill clean-up workers participating in the Gulf STUDY. In: ISEE Conference Abstracts, 26(1), 2278, agosto 2014.
- San-Martín, M. I., Escapa, A., Alonso, R. M., Canle, M., e Morán, A. (2020). Degradation of 2-mercaptobenzothiazole in microbial electrolysis cells: Intermediates, toxicity, and microbial communities. *Science of The Total Environment*, 733, 139155.
- Santaren, K. C. F. (2025). Monitoramento de ambientes marinhos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos de petróleo através de métodos moleculares. Tese de Doutorado em Ciências (Microbiologia), Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Satpute, S.K., Banat, I.M., Dhakephalkar, P.K., Banpurkar, A.G., Chopade, B.A. (2010). Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. *Biotechnology Advances*, 28(4), 436–450.
- Sharma, K., Shah, G., Singhal, K. e Soni, V. (2024). Comprehensive insights into the impact of oil pollution on the environment. *Regional Studies in Marine Science*, 74, 103516.
- Sharma, N., Lavania, M. e Lal, B. (2021). Biosurfactant: a next-generation tool for sustainable remediation of organic pollutants. *Frontiers in Microbiology*, 12, 821531.
- Sheng, X. F., He, L. Y., Zhou, L., & Shen, Y. Y. (2009). Characterization of *Microbacterium* sp. F10a and its role in polycyclic aromatic hydrocarbon removal in low-temperature soil. *Canadian journal of microbiology*, 55(5), 529-535.
- Silva, T.P., Paixão, S.M., Tavares, J., Gil, C.V., Torres, C.A.V., Freitas, F. e Alves, L. (2022). A new biosurfactant/bioemulsifier from *Gordonia alkanivorans* strain 1B: production and characterization. *Processes*, Basel, 10(5), 845.
- Soares, M.O., Teixeira, C.E.P., Bezerra, L.E.A., Rabelo, E.F., Castro, I.B. e Cavalcante, R.M. (2022). The most extensive oil spill registered in tropical oceans (Brazil): the balance sheet of a disaster. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 19869–19877.
- Song, B., Li, Z., Li, S., Zhang, Z., Fu, Q., Wang, S., Li, L. e Qi, S. (2021). Functional metagenomic and enrichment metatranscriptomic analysis of marine microbial activities within a marine oil spill area. *Environmental Pollution*, 274, 116555.
- Speight, J. G. (2015). *Handbook of petroleum product analysis*. John Wiley & Sons.
- Speight, J.G. e El Gendy, N.S. (2017). *Introduction to petroleum biotechnology*. (Cambridge, MA: Gulf Professional Publishing).
- Srogi, K. (2007). Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environmental chemistry letters*, 5(4), 169-195.
- Szczeklik, A., Szczeklik, J., Galuszka, Z., Musial, J., Kolarzyk, E. e Targosz, D. (1994). Humoral immunosuppression in men exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and related carcinogens in polluted environments. *Environmental health perspectives*, 102(3), 302-304.

- Tewari, S. e Sirvaiya, A. (2015). Oil spill remediation and its regulation. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 1(6), 1-7.
- Tretyakova, N., Matter, B., Jones, R. e Shallop, A. (2002). Formation of benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA adducts at specific guanines within *K-ras* and *p53* gene sequences: stable isotope-labeling mass spectrometry approach. *Biochemistry*, 41(30), 9535–9544.
- Truskewycz, A., Gundry, T. D., Khudur, L. S., Kolobaric, A., Taha, M., Aburto-Medina, A., Ball, A. S. e Shahsavari, E. (2019). Petroleum Hydrocarbon Contamination in Terrestrial Ecosystems—Fate and Microbial Responses. *Molecules*, 24(18).
- Uzoigwe, C., Burgess, J.G., Ennis, C.J. e Rahman, P.K.S.M. (2015). Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. *Frontiers in Microbiology*, 6, 245.
- Valencia-Luna, G. A., Lozada-Campos, D., Pardo-López, L., Millán-López, K. S., Loera, O., Tapia-Hernández, A. e Pérez-Armendáriz, B. (2025). Biodegradation potential and taxonomic composition of hydrocarbon-degrading bacterial consortia in diesel-contaminated agricultural soils. *Applied Microbiology*, 5(4), 126.
- Varjani, S. J. (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277-286.
- Vethaak, A. D., Davies, I. M., Thain, J. E., Gubbins, M. J., Martínez-Gómez, C., Robinson, C. D., Moffat, C. F., Burgeot, T., Maes, T., Wosniok, W., Giltrap, M., Lang, T. e Hylland, K. (2017). Integrated indicator framework and methodology for monitoring and assessment of hazardous substances and their effects in the marine environment. *Marine environmental research*, 124, 11-20.
- Vogel, A. L., Thompson, K. J., Straub, D., Musat, F., Gutierrez, T. e Kleindienst, S. (2024). Genetic redundancy in the naphthalene degradation pathway of *Cycloclasticus pugetii* strain PS 1 enables response to varying substrate concentrations. *FEMS Microbiology Ecology*, 100(6), fiae060.
- Waikhom, D., Ngasotter, S., Devi, L.S., Devi, M.S. e Singh, A.S. (2020). Role of microbes in petroleum hydrocarbon degradation in the aquatic environment: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(5), 2990–2903.
- Walton, J.L. e Buchan, A. (2024). Evidence for novel polycyclic aromatic hydrocarbon degradation pathways in culturable marine isolates. *Microbiology Spectrum*, 11(6), e03409–23.
- Wan, T., Au, D. W. T., Mo, J., Chen, L., Cheung, K. M., Kong, R. Y. C. e Seemann, F. (2022). Assessment of parental benzo [a] pyrene exposure-induced cross-generational neurotoxicity and changes in offspring sperm DNA methylome in medaka fish. *Environmental epigenetics*, 8(1), dvac013.
- Wang, C., Guo, G., Huang, Y., Hao, H. e Wang, H. (2017). Salt adaptation and evolutionary implication of a Nah-related PAHs dioxygenase cloned from a halophilic phenanthrene degrading consortium. *Scientific Reports*, 7, 12525.
- Yani, M., Charlena, C., Mas'ud, Z. A., Anas, I., Setiadi, Y. e Syakti, A. D. (2020). Isolation, selection and identification of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) degrading bacteria from heavy oil waste (HOW) contaminated soil. *HAYATI Journal of Biosciences*, 27, 142.
- Yuan, L., Zhang, Y., Xu, J., Liu, F., Liang, Y., Wang, B., Wu, M., Fan, Z. e Yang, L. (2025). Polycyclic aromatic hydrocarbons promote tumorigenesis of gallbladder cancer via aryl hydrocarbon Receptor-HEGBC positive feedback axis. *iScience*, 28(5).
- Zhang, F., Zhao, B., Fan, Y., Qin, L., Shi, J., Chen, L., Xu, L., Jin, X., Sun, M., Deng, H., Zeng, H., Xiao, Z., Yang, X. e Ge, G. (2025). Discovery of a novel *AhR-CYP1A1* axis activator for mitigating inflammatory diseases using an in situ functional imaging assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 15(1), 508-525.
- Zock, J.-P., Rodriguez-Trigo, G., Pozo-Rodriguez, F., Barberà, J.A., Bouso, L., Torralba, Y., Antó, J.M., Gómez, F.P., Fuster, C., Vereá, H., SEPAR-Prestige Study Group (2007). Prolonged respiratory symptoms in clean up workers of the Prestige oil spill. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 176(6), 610–617.