



**Maria Joana Baptista  
Barbosa**

**Efeitos da acidificação dos oceanos nas  
comunidades microbianas bénticas de ambientes  
estuarinos**

**Effects of ocean acidification on benthic microbial  
communities in estuarine environments**



Universidade de Aveiro  
2022

**Maria Joana Baptista  
Barbosa**

**Efeitos da acidificação dos oceanos nas  
comunidades microbianas bénticas de ambientes  
estuarinos**

**Effects of ocean acidification on benthic microbial  
communities in estuarine environments**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para obtenção do grau de Mestre Microbiologia, realizada sob a orientação científica do Doutor Newton Carlos Marcial Gomes, Investigador Principal e do Doutor António Miguel de Oliveira Louvado, Investigador Doutorado (nível 1) do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Dedico este trabalho ao meu marido e filhos pelo incansável apoio.

## **o júri**

presidente

Profa. Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso  
Professora Associada c/ Agregação, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

**Vogal**

Arguente: Doutora Vanessa Jesus Oliveira  
Investigadora Doutora (Nível 1), CESAM & Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

**Vogal**

Orientador: Doutor Newton Carlos Marcial Gomes  
Investigador Principal, CESAM & Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

Ao Doutor Newton Carlos Marcial Gomes, Investigador Principal como orientador da tese, obrigada pela ajuda, e por dedicar seu tempo para corrigir e fornecer sugestões para o aperfeiçoamento desta tese.

Ao Doutor António Miguel de Oliveira Louvado, Investigador Doutorado do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, como segundo Coordenador, obrigada pelo apoio e assistência.

À Professora Sónia Mendo como diretora do Programa: Mestrado em Microbiologia, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro-Portugal.

A todos os professores docentes: Artur Alves, Ângela Cunha, Adelaide Almeida, Susana Loureiro, Amadeo Soares, José seródio, António Calado, Isabel Lopes muito obrigado por aprenderem e ensinarem a conhecer-me.

Aos funcionários e colaboradores do laboratório do Laboratório de Microbiologia Molecular Aplicada e Ambiental (LMAA) e do Laboratório de Estudos Moleculares em Meio Marinho (LEMAM) pela disponibilidade, auxílio e momentos de convivência.

Aos amigos, quando estamos juntos estudamos conhecimento e partilhamos experiências e alegrias em Aveiro

À mãe e ao pai que já faleceram, você é especialmente aquele que deu a vida, jornada de vida, força e amor.

Ao meu marido e filhos que são compreensivos e esperam pacientemente em oração, esperança e união.

## palavras-chave

Alterações climáticas, Microbiologia Marinha, Ambiente

## resumo

O aumento global de CO<sub>2</sub> atmosférico está na base do processo geoquímico que tem como consequência o decréscimo global do pH nos oceanos e que é geralmente designado por acidificação oceânica (AO). Atualmente é consensual que a acidificação do oceano irá ter um impacto nas comunidades microbianas e conseqüentemente na função dos ecossistemas marinhos. O objetivo deste trabalho é rever o conhecimento atual dos impactos deste processo na descontaminação de hidrocarbonetos, identificando as lacunas e possíveis linhas de investigação futuras.

Reduções no pH da água em zonas marinhas tem sido descrita como capazes de induzir alterações nas comunidades microbianas de ambientes contaminados por hidrocarbonetos. É esperado que estas alterações na dinâmica das comunidades microbianas bentônicas tenha repercussões tanto na quantidade como na qualidade de hidrocarbonetos degradados levando potencialmente, a um aumento da acumulação dos hidrocarbonetos mais recalcitrantes como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Um possível meio para atenuar esta mudança na diversidade funcional poderá ser através de transferência horizontal de genes. Elementos genéticos móveis, como os plasmídeos, têm um importante papel na degradação de compostos xenobióticos, fornecendo genes catabólicos às comunidades não adaptadas. Este potencial poderá ser explorado de uma perspectiva biotecnológica para promover a biodegradação natural destes compostos. Além disso, outras estratégias que se baseiam na utilização de aditivos químicos, como nutrientes e surfactantes que aumentam a biodisponibilidade dos hidrocarbonetos (i.e., bioestimulação), ou na adição de bactérias autóctones ou alóctones especializadas na degradação de hidrocarbonetos (bactérias hidrocarbonoclasticas) ou na produção de biosurfactantes (i.e., bioaugmentação) podem ser usadas. Em suma, estudos futuros são necessários para entender o efeito da AO na diversidade funcional e genética das comunidades microbianas de ambientes marinhos cronicamente contaminados.

**keywords**

Climatic Changes, Marine Microbiology, Environmental

**abstract**

The global rise of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration is changing ocean chemistry and reducing seawater pH in a process denominated as ocean acidification (OA). Currently, there is a consensus among the scientific community that OA will impact marine communities and, consequently, ecosystem processes. The goal of this work is to review the current knowledge on the processes of oil hydrocarbon decontamination in a changing ocean exposed to increasing acidification and identify gaps and future research lines.

OA has been recognized to affect marine microbial communities and their functions, namely oil decontamination. Reduced pH conditions have been found to alter the microbial communities of oil contaminated sediments, leading to losses in functional diversity and, consequently, changes in the oil hydrocarbon degradation processes. OA is expected to affect both the quantity and quality of oil hydrocarbons degraded, potentially leading to a higher persistence of recalcitrant polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments. A possible means that has been speculated to attenuate the loss of functional diversity could be through the horizontal transfer of genes. Mobile genetic elements (MGE), such as plasmids have an important role in xenobiotic degradation, providing catabolic genetic resources for maladapted communities. These MGE have potential to be exploited in a biotechnological perspective to enhance oil hydrocarbon degradation in the future ocean. In addition, other bioremediation strategies based on the introduction of autochthonous or allochthonous specialized bacteria (bioaugmentation; e.g., hydrocarbonoclastic or biosurfactant-producing strains), addition of limiting nutrients or surfactants can be used to promote oil bioavailability and degradation. Overall, future studies are needed to understand the effect of OA on the functional and genetic diversity of microbial communities of marine environments, particularly in chronically contaminated environments.

# Índice

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Lista de Figuras.....</b>  | <b>2</b>  |
| <b>Lista de Tabelas.....</b>  | <b>3</b>  |
| <b>Lista de Acrónimos e Abreviaturas.....</b>   | <b>4</b>  |
| <b>1. Introdução.....</b>   | <b>5</b>  |
| <b>2. Microrganismos marinhos e a acidificação dos oceanos.....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>3. Degradação de hidrocarbonetos em ambientes estuarinos.....</b>  | <b>12</b> |
| <b>3.1. A importância de plasmídeos no processo de adaptação das bactérias e<br/>    remoção de hidrocarbonetos em sedimentos marinhos.....</b> | <b>13</b> |
| <b>4. Estratégias de bioremediação de ambientes marinhos.....</b>   | <b>15</b> |
| <b>5. Efeitos interativos da acidificação dos oceanos e a poluição por<br/>    hidrocarbonetos.....</b>   | <b>18</b> |
| <b>6. Conclusão.....</b>  | <b>20</b> |
| <b>Referências.....</b>   | <b>22</b> |



## Lista de Figuras

- Figura 1.** Temperatura média anual da terra. Retirado de [www.nasa.gov](http://www.nasa.gov).....5
- Figura 2.** Este gráfico representa as medições reais da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, da concentração de co<sub>2</sub> dissolvida e do ph na estação oceânica mauna loa, a série temporal mais longa (1958 até o momento). As medições da química marinha pco<sub>2</sub> e ph da água do mar na estação aloha começaram em 1988. Esta série temporal demonstra a relação causa efeito do aumento do co<sub>2</sub> na acidificação oceânica. Enquanto as concentrações de pco<sub>2</sub> da água do mar aumentam com as concentrações atmosféricas, o ph da água do mar diminui. Retirado de (Fabry et al., 2008).....6
- Figura 3.** Gráfico de bjerrum demonstrando as proporções relativas de [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>], [CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>] e [CO<sub>2</sub>] do carbono inorgânico dissolvida de agua marinha sob diferentes condições de ph (eixo horizontal) e de temperatura (t), salinidade (s) e pressão atmosférica(p) (linhas espessas: s=35‰, t=25°C, p=0bar; linhas estreitas: s=35, t=0°C, p=0bar; e linha picotadas: s=35, t=0°C, p=300bar). Zona sombreadas representa a projeção do ph para o oceano em 2010. Retirado de (Turley et al., 2010).....7
- Figura 4.** Diagrama do processo mecanístico da acidificação.....8
- Figura 5.** Esquema do fluxo de material principal através da teia alimentar micróbios (o “loop” microbiano). Os micróbios assimilam matéria orgânica dissolvida (dom) e são predados por protistas hetero e mixotróficos fornecem nutrição remineralizante para componentes autotrófico que libertam dom durante fotossíntese e, mais importante, durante a decomposição. Os vírus são componentes importantes na cadeia alimentar microbiana. (Herndl & Weinbauer, 2003).....11

## **Lista de Tabelas**

**Table 1.** Estudos de bioestimulação e bioaumentação para a destoxificação de hidrocarbonetos de petróleo em ambiente marinho.....17

**Tabela 2.** Estudos sobre isolados bacterianos com capacidade de degradar hidrocarbonetos em ambientes marinhos.....20

## **Lista de Acrónimos e Abreviaturas**

|      |   |
|------|---|
| AO   | Acidificação do Oceano                  |
| PAH  | Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos |
| MGE  | Elementos Genéticos Móveis              |
| SFT  | Surfactantes                            |
| BA   | Bioaugmentação                          |
| Nndo | Naftaleno Dioxigenase                   |
| BS   | Bioestimulação                          |
| NA   | Atenuação Natural                       |
| HC   | Hidrocarbonetos                         |
| ADN  | Ácido desoxirribonucleico               |
| ARN  | Ácido ribonucleico                      |
| ASV  | Amplicon sequence variant               |

## 1. Introdução

A temperatura média global da superfície da Terra tem vindo a aumentar progressivamente nas últimas décadas, com os anos 2020 e 2016 a serem considerados os mais quentes desde que há registo (Szulejko et al., 2017; Voosen, 2021). A expectativa é que a temperatura do planeta seja, em média, +8.6 °C mais elevada em 2100 do que o valor referência dos anos 1951 a 1980 (Figura 1; Szulejko et al., 2017). Tudo isto deve-se ao aumento repentino da concentração de gases com efeito de estufa (ex.. CO<sub>2</sub>) na atmosfera (Shukla et al., 2019). O ritmo deste aumento não tem precedentes nos últimos 55 milhões de anos e a causa está provavelmente ligada à atividade humana do último século (Figura 2; Shukla et al., 2019). Pensa-se que a concentração atmosférica de dióxido e carbono (CO<sub>2</sub>) está 50% (410 ppm) mais elevada agora (2020) do que antes da revolução industrial (ca. 1800; (Shukla et al., 2019).

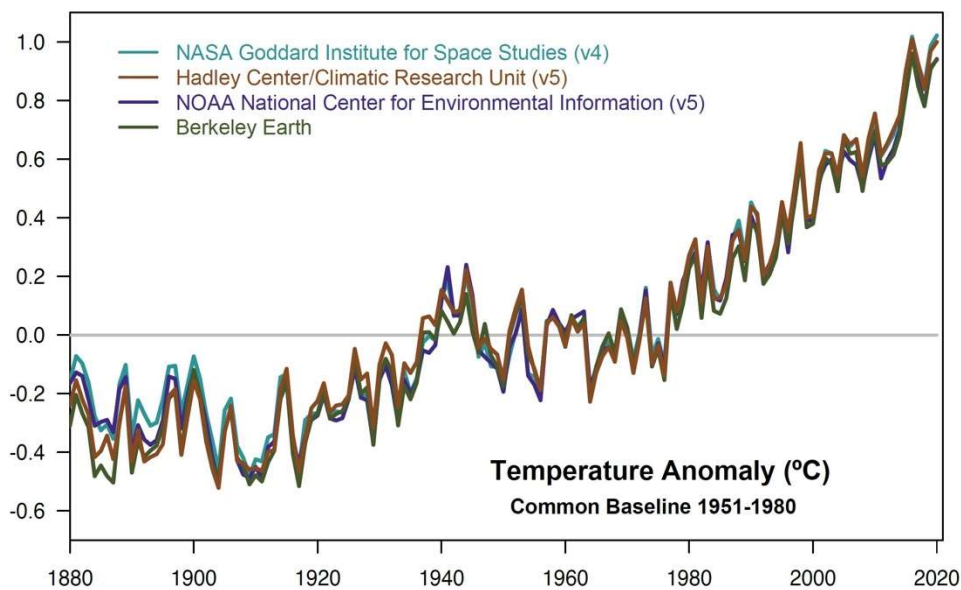


Figura 1 – Temperatura média anual da Terra. Retirado de [www.nasa.gov](http://www.nasa.gov).

Apesar de elevado, este aumento foi atenuado por causa da captação de CO<sub>2</sub> do oceano global. Estima-se que entre 20 a 30% de todo o CO<sub>2</sub> que foi ou será emitido para a atmosfera é adsorvido pelos oceanos, atenuado a concentração atmosférica de gases de efeito de estufa (Doney et al., 2020).

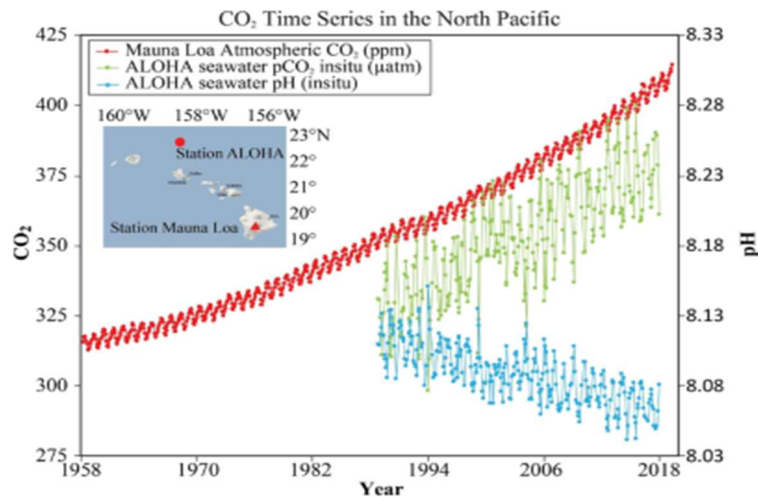


Figura 2- Este gráfico representa as medições reais da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, da concentração de CO<sub>2</sub> dissolvida e do pH na estação oceânica Mauna Loa, a série temporal mais longa (1958 até o momento). As medições da química marinha do pCO<sub>2</sub> e pH da água do mar na Estação ALOHA começaram em 1988. Esta série temporal demonstra a relação causa efeito do aumento do CO<sub>2</sub> na acidificação oceânica. Enquanto as concentrações de pCO<sub>2</sub> da água do mar aumentam com as concentrações atmosféricas, o pH da água do mar diminui. Retirado de Fabry et al., 2008.

Todavia esta mitigação tem um custo. A absorção de CO<sub>2</sub> tem levado a uma mudança gradual na química marinha dos oceanos globais que se manifesta principalmente por uma redução global do pH oceânico num processo denominado de acidificação dos oceanos (AO) (Doney et al., 2020). Mecanicamente, esta acidificação advém do facto das moléculas de CO<sub>2</sub> ao serem dissolvidos em água marinha com pH ≈ 8, formarem um ião de bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e um ião de hidrogénio livre - H<sup>+</sup> (Cornwall et al., 2021). A libertação deste ião H<sup>+</sup> leva posteriormente à redução do pH do sistema e isto conduz mudanças na especiação química de iões carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>; Figura 3; (Cornwall et al., 2021). Estima-se que o pH oceânico tenha reduzido 0.15 unidades desde o início da Revolução Industrial (ca. 1800), de 8.25 para 8.1, e está previsto que se reduza para 7.85 até o final deste século (Nelson et al., 2020).

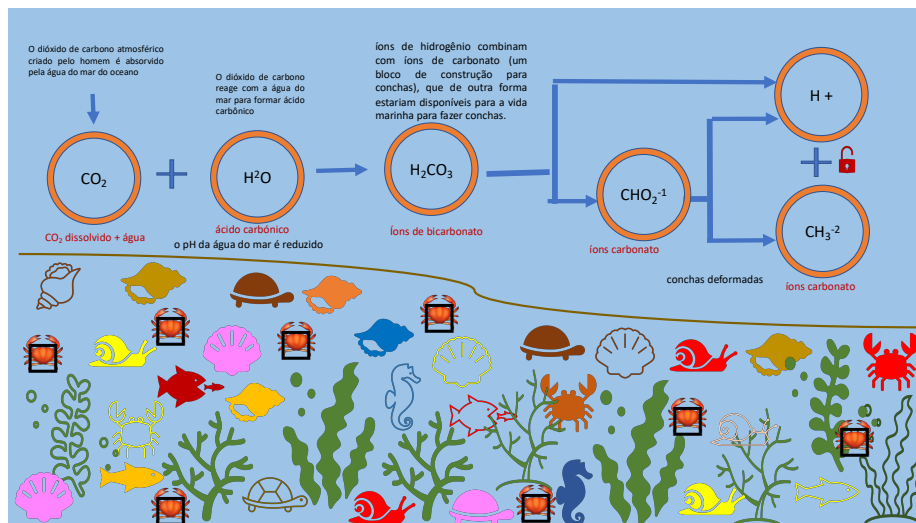


Figura 3 – Diagrama do processo mecânico da acidificação. Esquema explicativo sobre os prejuízos da acidificação dos oceanos para comunidades de indivíduos que dependem da deposição de carbonato para desenvolver suas estruturas corporais externas. Fontes: <http://www.oceanacidification.org.uk/>

A acidificação dos oceanos tem efeitos nos processos bioquímicos e ecológicos das comunidades biológicas marinhas (Louvado et al., 2018). O estudo dos efeitos da acidificação dos oceanos (AO) nas comunidades biológicas é prioritário para compreender o oceano futuro (Figure 4; Turley et al., 2010). Há muito que está previsto que os impactos mais diretos das alterações climáticas nos oceanos, isto é, aquecimento e acidificação, irão desencadear uma cascata de efeitos que poderão afetar múltiplos processos ecológicos (Doney et al., 2020). A acidificação dos oceanos aliado ao aquecimento global, a subida de níveis do mar e a outros fenómenos de causa antropogénica como a pesca excessiva, e a poluição marinha, tem resultado numa enorme perda de biodiversidade e funções ecológicas nos ecossistemas marinhos (Turley et al., 2010).

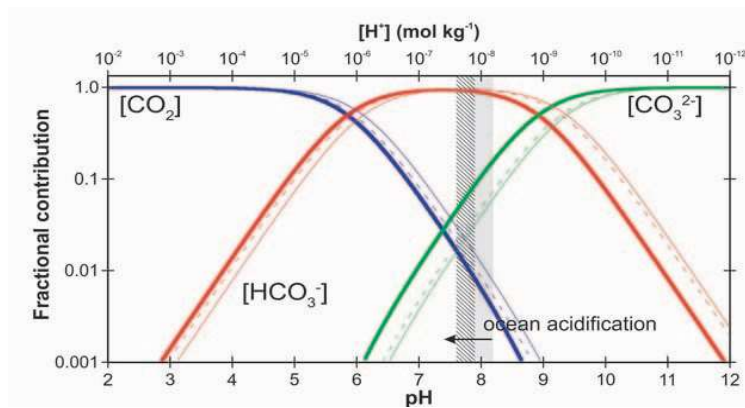


Figura 4 – Gráfico de Bjerrum demonstrando as proporções relativas de  $[HCO_3^-]$ ,  $[CO_3^{2-}]$  e  $[CO_2]$  do carbono inorgânico dissolvido da água marinha sob diferentes condições de pH (eixo horizontal) e de Temperatura ( $T$ ), salinidade ( $S$ ) e pressão atmosférica ( $P$ ) (linhas espessas:  $S=35\%$ ,  $T=25^\circ C$ ,  $P=0bar$ ; linhas estreitas:  $S=35$ ,  $T=0^\circ C$ ,  $P=0bar$ ; e linha picotadas:  $S=35$ ,  $T=0^\circ C$ ,  $P=300bar$ ). Zonas sombreadas representam a projeção do pH para o oceano em 2010. Retirado de Turley et al., 2010.

Os hidrocarbonetos de óleo são um dos poluentes mais difundidos nos oceanos. Milhões de litros de petróleo entram nos oceanos do mundo por meio de fontes naturais e antropogênicas todos os anos. Isso é mais crítico em ambientes urbanos costeiros que estão constantemente expostos a hidrocarbonetos de óleo (exposições agudas e crônicas). As principais fontes de contaminação por óleo nas áreas costeiras urbanas são o escoamento urbano, águas residuais não tratadas de portos, refinarias, instalações de armazenamento, terminais de petróleo e atividades de transporte. Portanto, existe uma entrada constante de poluição por óleo nas áreas urbanas costeiras o que leva a que estes ambientes estejam permanentemente ameaçados. No momento, no entanto, a maior parte do óleo introduzido nos sistemas marinhos é removido devido à atividade metabólica dos micróbios marinhos (Head et al., 2006).

Contudo, apesar do papel central dos microrganismos na limpeza de hidrocarbonetos de óleo em ambientes marinhos, os fatores ambientais que impulsionam a sua agregação e atividade ainda permanecem desconhecidos (Mapelli et al., 2017). Esse conhecimento é altamente relevante no contexto das mudanças climáticas e seus efeitos sobre os ambientes urbanos costeiros cronicamente poluídos com hidrocarbonetos de óleo. Uma vez que os micróbios constituem o maior componente da biodiversidade e biomassa da Terra, entender como eles interagem com os poluentes e como as mudanças ambientais afetam os processos biológicos e a saúde do ecossistema é crucial. Por exemplo, as abordagens de biorremediação para reduzir a contaminação por hidrocarbonetos de óleo tem por base promover a atividade microbiana para aumentar a

remoção de hidrocarbonetos de óleo que podem afetar (positiva ou negativamente) outros organismos marinhos (Pelletier et al., 1997; Bruno et al., 2003; Davidson et al., 2014; Bhadury, 2015; Humanes et al., 2016) com consequências em várias interações ecológicas e conseqüentemente em todo o ecossistema. No entanto, a compreensão dos efeitos sinérgicos da acidificação dos oceanos e contaminação do óleo em ambientes já expostos à poluição crônica (por exemplo, áreas estuarinas) é uma tarefa complexa que envolve o estudo do efeito do baixo pH da água do mar sobre os micróbios marinhos e sua capacidade de degradar hidrocarbonetos de óleo. Nesta tese pretende-se fazer uma revisão dos efeitos da acidificação dos oceanos nos microrganismos marinhos e os seus potenciais efeitos no processo de remediação de ambientes estuarinos cronicamente expostos por hidrocarbonetos.

## **2. Microrganismos marinhos e a acidificação dos oceanos**

Os micróbios têm origem à 2-3 bilhões de anos atrás nos primórdios da evolução biológica (Salazar & Sunagawa, 2017). O seu aparecimento ajudou a criar as condições necessárias para que a vida se desenvolve subsequentemente (Salazar & Sunagawa, 2017). Nomeadamente, a produção de oxigênio por microrganismos marinhos fotossintéticos serviu de base para a respiração aeróbica em todas as formas de vida (Salazar & Sunagawa, 2017). Atualmente, os microrganismos marinhos são elementos cruciais em diversos ciclos biogeoquímicos marinhos (“loop” microbiano; Nagata et al., 2010). A diversidade genética e metabólica das bactérias permite que os micróbios marinhos realizem muitas etapas nestes ciclos que não podem ser concluídas por outros organismos (Liu et al., 2010; Salazar & Sunagawa, 2017). Por exemplo, os microrganismos são responsáveis pela mediação de diversos ciclos biogeoquímicos, tais como, o carbono (C), o azoto (N), o fósforo (P) e o enxofre (S) (Francisco J R C Coelho et al., 2015; Falkowski et al., 2008), assim como na degradação de poluentes em ambientes marinhos (Coelho et al., 2015).

Os microrganismos formam a base da cadeia alimentar do ecossistema pelágico. Eles intercalam e modificam em resposta a diferentes períodos produtivos e estão sujeitos aos impactos de mudanças ambientais (Nelson et al., 2020). A comunidade microbiana dos ecossistemas pelágicos é composta por picoplâncton, bactérias heterotróficas, bactérias fototróficas e protozoários, entre outros (Figura 5; Burns & Galbraith, 2007). Em ecossistemas aquáticos, o carbono orgânico dissolvido é muito importante para a persistência e o crescimento da comunidade de microrganismos (Kavitha &



Vijayalakshmi, 2011). O carbono ao ser assimilado pelos microrganismos é transferido para níveis tróficos superiores. Isto demonstra a relevância das redes de alimentação microbiana para o uso de carbono e a sua circulação no ecossistema (Trombetta et al., 2020). Em média, quase 50% de carbono orgânico produzido pelo fitoplâncton, que são os produtores primários principais, é reconvertido, pelo denominado “loop” microbiano na camada mais superficial do oceano, e assimilado em níveis tróficos superiores (Nagata et al., 2010). O “loop” microbiano consiste em fitoplâncton (cianobactérias e algas unicelulares), bactérias, protistas e vírus, sendo que os protozoários e os vírus controlam a abundância de comunidade microbiana e do fitoplâncton (Nagata et al., 2010). Em um nível trófico inferior ao dos procariontes, existem seres fotossintéticos, principalmente algas eucariontes unicelulares e cianobactérias, que são responsáveis pela produção primária e num nível trófico superior, protozoários, especialmente ciliados e flagelados, que são o elo entre o bactérias heterotróficas e outros níveis tróficos (Walther et al., 2002). Essa interação biótica é estabelecida por meio das características de predação, habilidade de forragear presas e dispersão fornecida por ciliados e flagelados (Coelho et al., 2016). Todos esses níveis tróficos juntos compreendem o componente biótico da alça microbiana observada na Figura 5. Os fluxos de carbono e a energia mediados pelos microrganismos foram definidos para uma variedade de sistemas marinhos, desde as áreas costeiras ao oceano aberto (Fuhrman, 2009; Hansell & Ducklow, 2003; Trombetta et al., 2020). Neste contexto, as comunidades planctônicas são vulneráveis à acidificação do oceano, o que pode afetar a disponibilidade de alimentos para organismos maiores (de Scally et al., 2020). Todavia, estudos prévios em ambiente de meso- e microcosmos são contraditórios, enquanto alguns revelam que a AO pode impactar marcadamente a estrutura, a diversidade, a conectividade, a complexidade e a funcionalidade do bacterioplâncton marinho (Bunse et al., 2016; de Scally et al., 2020), outros reiteram que tanto a estrutura, como as funções ecológicas das comunidades do bacterioplâncton marinho são resilientes à AO e portanto não são afetadas (Wang et al., 2016).

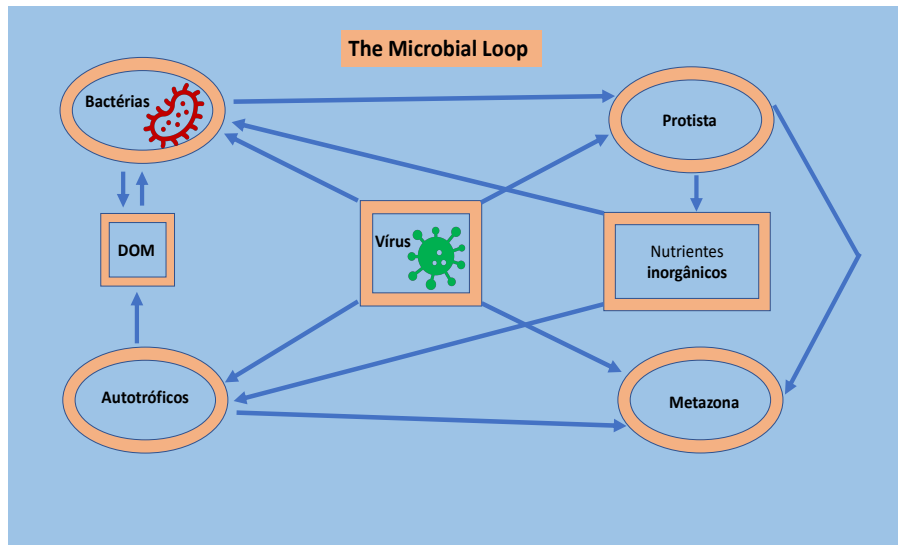


Figura 5 - "Loop" microbiano. Os micróbios assimilam matéria orgânica dissolvida (DOM) e são predados por protistas hétero- e mixotróficos que fornecem nutrição remineralizante para as frações autotróficas que libertam DOM durante a fotossíntese e, mais importante, durante a decomposição. Retirado de Herndl & Weinbaueur, 2003.

Noutros ambientes, como sedimentos estuarinos verificou-se que a AO tem um efeito significativo na estrutura das comunidades bacterianas envolvidas em processos de destoxificação (Coelho et al., 2015). Uma redução do pH do sistema de microcosmo resultou numa diminuição significativa da abundância de bactérias sulfato-redutoras do género *Desulfobacterales* (Coelho et al., 2015), reconhecidos como importantes degradadores de hidrocarbonetos em ambientes marinhos (Wöhlbrand et al., 2013). Posteriormente, os autores revelaram reduções significativas na abundância de fungos degradadores de hidrocarbonetos e aumentos na concentração de alcanos nos tratamentos com AO (Coelho et al., 2016). Contudo estudos posteriores revelaram que estes efeitos não tem percussão nas camadas subjacentes (Louvado et al., 2018). A AO tem o potencial de causar impactos imprevisíveis na vida marinha tal como a conhecemos (Allemand & Osborn, 2019; Bunse et al., 2016; Coelho et al., 2015, 2016b; Louvado et al., 2018; Weinbauer et al., 2011). Alguns estudos debruçaram-se sobre o efeito da AO na estrutura e processos microbianos e tanto referenciam a capacidade adaptativa destas comunidades à AO como também a fragilidade de certos processos metabólicos (de Scally et al., 2020; Wang et al., 2016).

### 3. Degradação de hidrocarbonetos em ambientes estuarinos

Os ecossistemas estuarinos são fundamentais para a manutenção da saúde costeira e são conhecidos por sua importância ecológica, econômica e social. No entanto, milhões de litros de petróleo entram nos oceanos através de fontes naturais e antropogênicas impactando áreas costeiras (Prince, 2005). Na verdade, derramamentos de óleo, atividades de transporte e descargas industriais afetam adversamente os ecossistemas estuarinos e os tornaram um dos ecossistemas mais ameaçados globalmente. No entanto, graças à versatilidade metabólica das comunidades microbianas, a maioria dos hidrocarbonetos de petróleo introduzidos nos sistemas marinhos são removidos devido à atividade de microrganismos (Head et al., 2006). Nas áreas costeiras, as comunidades microbianas dos sedimentos desempenham um papel fundamental no processo de degradação dos poluentes e na manutenção da saúde estuarina. O processo de descontaminação de sedimentos de hidrocarbonetos de óleo é crítico para a remediação de ambientes costeiros. Este processo é controlado por fatores físicos, químicos, geoquímicos, assim como, biológicos sinérgicos e antagônicos. No entanto, apesar da versatilidade catabólica dos microrganismos, o equilíbrio ecológico dos ambientes terrestres e aquáticos ainda é altamente suscetível à contaminação por hidrocarbonetos aromáticos do óleo.

Como as comunidades microbianas dos sedimentos podem se adaptar à contaminação por hidrocarbonetos de óleo, elas desempenham um papel fundamental no processo de descontaminação dos sedimentos e na manutenção de ecossistemas estuarinos saudáveis. A degradação aeróbia de hidrocarbonetos de óleo nesses ecossistemas ocorre principalmente na camada superficial e em microlocais com exposição suficiente ao O<sub>2</sub>. Devido à baixa mobilidade dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH), a comunidade microbiana que habita a camada superficial é considerada crucial para a degradação do PAH. Bouillon e colaboradores (2004) sugeriram que a superfície do sedimento pode ser o local mais prevalente de atividade bacteriana para mineralização de carbono em estuários de mangue.

Estudos anteriores investigaram o impacto de diferentes fontes de poluição por hidrocarbonetos na estrutura e função das comunidades microbianas na superfície dos sedimentos de estuários de mangue. Gomes e colaboradores (2007) desenvolveram um novo sistema de *ndo* reação em cadeia da polimerase (PCR) – Eletroforese em gel de Gradiente de Desnaturação (DGGE) para analisar a composição e abundância relativa dos genes de naftaleno dioxigenase (*ndo*) em sedimentos de manguezais. Os genes *ndo*

são importantes na degradação aeróbia de PAH e muitas vezes são transferidos horizontalmente por plasmídeos durante o processo de adaptação à contaminação ambiental. É importante notar que os autores descobriram que a diversidade e abundância relativa dos genes *ndo* eram distintas para cada local de amostragem. Mais, genótipos *ndo* relacionados a genes semelhantes a *nagAc* foram detetados apenas em manguezais contaminados com óleo. As análises de sequência de amplicões *ndo* revelaram novos genótipos *ndo* e mostraram que os genótipos *nah* e *phn* frequentemente estudados não eram abundantes nos sedimentos de mangue. Posteriormente, em um estudo de acompanhamento, os autores mostraram que embora a diversidade de comunidades bacterianas que habitam sedimentos de manguezais superficiais na Baía de Guanabara (Rio de Janeiro, Brasil) não tenha sido afetada por diferentes níveis de poluição de hidrocarbonetos em cada local de amostragem, contudo a sua composição difere acentuadamente entre os locais perturbados (Gomes et al., 2008). Curiosamente, muitas das populações bacterianas dominantes foram relacionadas a Alteromonadales, Burkholderiales, Pseudomonadales, Rhodobacterales e Rhodocyclales. Foi demonstrado que membros dessas taxa estão envolvidos na degradação aeróbia ou anaeróbia de poluentes de hidrocarbonetos. É curioso que, apesar de vários estudos já indicarem que parâmetros ambientais, físicos e químicos afetam diretamente a toxicidade dos poluentes antropogênicos, os efeitos sinérgicos das variáveis ambientais na química desses poluentes e sua toxicidade são frequentemente negligenciados. Mais recentemente alguns estudos abordaram os efeitos interativos de AO e poluição por óleo em ecossistemas marinhos costeiros (Coelho et al., 2015, 2016b; Louvado et al., 2018).

### **3.1. A importância de plasmídeos no processo de adaptação das bactérias e remoção de hidrocarbonetos em sedimentos marinhos**

Os estudos sobre plasmídeos em sedimentos marinhos são de especial interesse, pois sua abundância e distribuição podem representar um processo de adaptação das populações bacterianas como resposta direta à exposição a um determinado poluente. Isso ocorre devido à capacidade dos plasmídeos de se auto-transferirem e se replicarem em diferentes espécies bacterianas, proporcionando ao microrganismo novos atributos catabólicos e genes resistentes que os ajudarão a se adaptar a mudanças no ambiente, como o impacto de poluentes ambientais. Por exemplo, a abundância de plasmídeos pertencentes ao grupo IncP-1 foi positivamente correlacionada com o aumento da abundância de genes que codificam para resistência ao mercúrio em sedimentos de

mangue (Smalla et al., 2006). Frequentemente, as bactérias degradadoras de PAH carregam elementos genéticos móveis (MGE) que codificam para a degradação de hidrocarbonetos aromáticos (Top & Springael, 2002), mas ainda há uma falta de informações sobre a disseminação ambiental de genótipos catabólicos de PAH localizados em MGE a partir de bactérias com capacidade degradadora. Em sedimentos poluídos, uma alta pressão seletiva é vantajosa para espalhar os plasmídeos apropriados. A transferência horizontal de plasmídeo pode aumentar a ocorrência de genes catabólicos responsáveis pelo catabolismo do poluente e pode levar ao surgimento de novas combinações bactéria-plasmídeo, que têm mais sucesso na biorremediação de locais poluídos. O sucesso na transferência desses genes entre populações bacterianas pode, conseqüentemente, contribuir para uma recuperação mais rápida do meio ambiente. Em Oliveira et al. (2014), os autores detetaram MGE que codificam para degradação de PAH em bactérias de sedimento estuarino. Este estudo sugere que a transferência horizontal de genes pode impulsionar a disseminação de genes *nah* em ambientes estuarinos e provavelmente contribuir para o processo de adaptação bacteriana à área estuarina exposta à contaminação por OH (Oliveira et al., 2014).

Os hidrocarbonetos do óleo podem afetar as comunidades microbianas que habitam os sedimentos marinhos, que são cruciais para a saúde e o equilíbrio dos ecossistemas estuarinos. Em particular, a contaminação de sedimentos com hidrocarbonetos de óleo é particularmente perigosa para plantas estuarinas, porque compostos de baixo peso molecular como BTEX, naftaleno e fenantreno podem afetar adversamente a sobrevivência da planta e o crescimento da raiz ou até mesmo afetar a reprodução da planta por anos. Em estudos recentes (Gomes et al., 2007; 2008; 2010), os autores sugeriram que o impacto de longo prazo da poluição por hidrocarbonetos pode ter tido um forte impacto na diversidade estrutural e funcional de comunidades microbianas de sedimentos de estuários de manguezais urbanos localizados na Guanabara Bay (Rio de Janeiro, Brasil). No entanto, uma grande desvantagem foi a natureza correlacional desses estudos. Para determinar como a poluição por hidrocarbonetos afeta as comunidades bacterianas naturais, precisamos ser capazes de estudar essas comunidades sob condições controladas. Smalla e colaboradores (2006) mostraram que a abundância de plasmídeos IncP-1 se correlacionou com o grau de poluição de mercúrio. Novamente neste estudo, os autores não puderam descartar que outros fatores ambientais contribuíram para a abundância de plasmídeo que observaram.

Estudos recentes apoiam a possibilidade de utilizar organismos portadores de plasmídeo para espalhar genes catabólicos para populações bacterianas indígenas, a fim de aumentar a degradação de poluentes ou a desintoxicação de poluentes nas plantas (Taghavi et al., 2005, Hedlund & Staley, 2006). Esta hipótese está de acordo com estudos anteriores em sedimentos estuarinos (Gomes et al., 2007) e em interações de micróbios de plantas em um estuário poluído (Oliveira et al., 2014). Além disso, os genes transferidos horizontalmente podem persistir por um longo tempo em uma fração de uma população bacteriana, mesmo que sejam ligeiramente deletérios (Novozhilov et al., 2005, Heuer et al., 2008). Supõe-se que os MGE criam uma variação genética permanente, por meio da qual a adaptação a uma rápida mudança ambiental ou expansão do habitat pode ser provavelmente alcançada do que por meio de novas mutações (Jain et al., 2003; Hermisson & Pennings, 2005). Portanto, de acordo com os dados disponíveis sobre a relevância ecológica dos MGE em ambientes marinhos impactados, provavelmente os plasmídeos podem desempenhar um papel crítico no processo de adaptação bacteriana aos efeitos interativos de AO e poluição por óleo em ecossistemas marinhos costeiros.

#### **4. Estratégias de bioremediação de ambientes marinhos**

Os microorganismos desempenham um papel fundamental na bioremediação de hidrocarbonetos em ambientes marinhos. Por exemplo, atualmente a maior parte dos hidrocarbonetos de petróleo introduzidos nos sistemas marinhos são removidos através da ação dos microorganismos (Head et al., 2016). Tendo como ponto de partida a capacidade dos microorganismos de utilizarem os hidrocarbonetos como fonte de energia e carbono, nas últimas décadas foram desenvolvidas várias estratégias para potenciar a sua ação em condições de contaminação aguda por hidrocarbonetos. Estas estratégias podem ser divididas em duas categorias com base nos seus mecanismos ou modos de ação; a bioestimulação e a bioaugmentação (Tabela 1). Atualmente, a mais utilizada e documentada é a bioremediação baseada na estimulação da capacidade metabólica dos microorganismos ou bioestimulação (Tabela 1). Geralmente, o fator limitante para a degradação de hidrocarbonetos de petróleo em ambientes marinhos é a concentração de nutrientes inorgânicos como o nitrogénio e o fósforo. A bioestimulação da capacidade metabólica dos microorganismos degradarem hidrocarbonetos através da adição destes nutrientes está amplamente documentada, resultando de facto num aumento significativo e efetivo da degradação de hidrocarbonetos (McKew et al., 2007). Uma outra forma de bioestimulação utilizada para acelerar a degradação de hidrocarbonetos é a adição de

surfactantes. Poluentes orgânicos como hidrocarbonetos de petróleo não estão muitas vezes disponíveis para degradação por microrganismos devido à sua tendência para se ligarem a superfícies sólidas ou sedimentos. A adição de surfactantes com o objetivo de reduzir a tensão superficial e aumentar a superfície disponível dos compostos hidrofóbicos como os hidrocarbonetos de petróleo é uma forma de aumentar a sua biodisponibilidade (McKew et al., 2007).

A bioaugmentação ou adição de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos é outra das estratégias utilizadas para acelerar a degradação de hidrocarbonetos. Esta abordagem, no entanto, é controversa e em alguns casos tem-se revelado pouco efetiva na medida em que são utilizados microrganismos com habilidade de degradar hidrocarbonetos mas que não estão adaptados às condições específicas dos locais contaminados. Dentro deste conceito, tem sido proposto que a melhor abordagem será utilizar microrganismos originários dos locais alvo a remediar. Assim, esses seriam isolados do local a remediar antes ou depois da contaminação, ultrapassando as possíveis limitações causadas por diferentes condições ambientais (Nikolopoulou et al., 2013). Assim, a probabilidade de sucesso é muito maior e provavelmente o impacto de adicionar microrganismos para acelerar a funcionalidade de um ecossistema a recuperar seria muito inferior. A discussão sobre a controvérsia (ou aceitação social) relacionada com este tipo de abordagens não cabe neste trabalho. No entanto e como nota, nos últimos anos a adição de microrganismos a sistemas marinhos como solução para possíveis problemas com origem em impactos antropogénicos parece ter vindo a ganhar alguma aceitação. É bem conhecido o trabalho de Rosado e seus colaboradores (2019) em que são utilizados probióticos para aumentar a resistência de corais ao “belaching” causado por aumentos de temperatura (Rosado et al., 2019).

A variabilidade nas condições ambientais é assim fundamental não só para o sucesso das estratégias baseadas na adição de microrganismos, mas para todas as outras abordagens já mencionadas. Nas próximas secções será discutido o efeito de diferentes níveis de pH, no contexto da acidificação dos oceanos, e a sua influência na remediação de hidrocarbonetos em sedimento.

Tabela 2 – Estudos de bioestimulação e bioaugmentação para a destoxificação de hidrocarbonetos de petróleo em ambiente marinhos.

| Metodologia  | Estratégia para aumentar a remediação do ambiente   | Resultados  | Referência                 |
|--|---|---|----------------------------|
| <p><i>In vitro</i>:<br/>Sistemas fechados com água marinha e petróleo. Sistemas contínuos com água marinha e petróleo e<br/>Sistemas fechados com solo arenoso e petróleo.</p> | <p><b>Bioaugmentação</b> com um consórcio de bactérias degradadoras de pireno (OPK) compostos pelas estirpes:<br/><i>Mycolicibacterium</i> sp. PO1 and PO2,<br/><i>Novosphingobium pentaromativorans</i> PY1 e <i>Bacillus subtilis</i> FW1; imobilizadas em zeólita.</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Em sistemas de água marinha: remoção de 74% de petróleo em 96 horas em amplos valores de pH (5.0 – 9.0), temperatura (30 – 40°C) e salinidade (20–60 ‰).</li> <li>Remoção de 80.67% de petróleo em 21 dias (versus 45% no ensaio controle; p &lt;0.05).</li> <li>Aumento na abundância relativa do gênero <i>Alcanivorax</i> (bactéria degradadora de hidrocarbonetos).</li> </ul>   | (Laothamteep et al., 2022) |
| <p><i>In vitro</i>.<br/>Microcosmos com sedimentos recolhidos na ilha de Samet, Tailândia e artificialmente contaminados com petróleo.</p>                                     | <p><b>Bioaugmentação</b> com <i>Exiguobacterium</i> sp. Estirpe AO-11.<br/><b>Bioestimulação</b> com urea.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bioaugmentação removeu 75% de petróleo em 100 dias, sem alteração da estrutura da comunidade bacteriana (n.s., p&gt;0.05).</li> <li>Bioestimulação sem resultados revelantes.</li> </ul>   | (Muangchinda et al., 2020) |
| <p><i>In vitro</i>.<br/>Meio mínimo salino e 0.33% (m/v) de petróleo bruto.</p>  | <p><b>Bioaugmentação</b> com um consórcio DL-1314 de bactérias degradadores de petróleo e produtoras de biosurfactantes; composto pelas estirpes <i>Bacillus</i> sp. DL-13, <i>Brevibacillus</i> sp. DL-1 e <i>Acinetobacter</i> sp. DL-34.</p>                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>Degradação de 60.75% do petróleo em 8 dias (66.32% dos hidrocarbonetos saturados e 63.16% de hidrocarbonetos aromáticos) em comparação com outros consórcios. <ul style="list-style-type: none"> <li>A análise das mudanças dinâmicas no consórcio DL-1314 revelou que as abundâncias da estirpe DL-13 foi correlacionado com a produção de surfactante no início do ensaio, a estirpe DL-1 com a degradação de hidrocarbonetos de baixo peso molecular e as estirpes DL-13 e DL-34 com a degradação sinérgica de hidrocarbonetos mais refratários.</li> </ul> </li> </ul> | (Dai et al., 2020)         |
| <p><i>In vitro</i>.<br/>Água marinha artificialmente contaminada com gasóleo.</p>  | <p><b>Bioaugmentação</b> estirpe <i>Pseudomonas</i> sp. YT-11 imobilizada em pó da casca da canela (<i>Cinnamomum verum</i>).</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>A taxa de degradação dos hidrocarbonetos pela estirpe imobilizada de 78.39% após 30 dias (versus 23.05% no tratamento controle).</li> <li>Sistema com bactéria imobilizada com uma comunidade bacteriana dominada por ASV pertencentes ao gênero <i>Alcanivorax</i> (59.09%), <i>Achromobacter</i> (24.34%) e <i>Thalassospira</i> (9.84%)</li> <li>Aumento dos genes funcionais envolvidos na degradação de hidrocarbonetos.</li> </ul>   | (Fu et al., 2021)          |
| <p><i>In vitro</i>.<br/>Bioreactores de sedimentos de ambientes portuários naturalmente contaminados e com oxigenação.</p>   | <p><b>Bioestimulação e Bioaugmentação</b>: adição de azoto e fosforo (N:P = 1:4) com e sem consórcios alóctones de micróbios halotolerantes e halofílicos ambientais.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bioestimulação e bioaugmentação com um consórcio alóctone de micróbios halotolerantes removeu 40% dos hidrocarbonetos a uma taxa de 220 mgkg<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup></li> </ul>   | (Avona et al., 2022)       |
| <p><i>In vitro</i>.<br/>Microcosmos de sedimentos marinhos artificialmente contaminados com 0.1 e 1% (v/v) de gasóleo ou petróleo e incubados a 4°C.</p>                       | <p><b>Bioestimulação</b> com 4.67 mM de NH<sub>4</sub>Cl e 1.47 mM de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bioestimulação aumentou a degradação de n-alcenos e PAH em microcosmos com 0.1% de gasóleo e petróleo, mas em tratamentos de 1% somente a degradação de n-alcenos foi beneficiada.</li> <li>Bioestimulação alterou significativamente a comunidade microbiana com promoção de estirpes do gênero <i>Paraperlucidibaca</i> e <i>Cycloclasticus</i>.</li> </ul>  | (Murphy et al., 2021)      |
| <p><i>Ex situ</i>.<br/>Microcosmos fechados com água marinha superficial, coletada ao largo de Pensacola, FL, EUA, e artificialmente contaminada com petróleo.</p>             | <p><b>Bioestimulação</b>: com dispersante químico COREXIT EC9500A, e testados em dispersão parcial e total.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Aumentou significativamente a taxa de biodegradação somente quando ocorreu dispersão total, diminuindo a meia-vida dos hidrocarbonetos de 15.4 para 8.8 dias.</li> <li>Alterou profundamente a composição da comunidade total (ADN) e da metabolicamente ativa (ARN), e aumentou a abundância de procariontes fixadores de azoto.</li> <li>Predominância de estirpes bacterianas pertencentes às classes Betaproteobacteria e Alphaproteobacteria</li> </ul>   | (Sun et al., 2019)         |



## **5. Efeitos interativos da acidificação dos oceanos e a poluição por hidrocarbonetos**

O aumento das concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico levará à acidificação dos oceanos por meio da geração de ácido carbônico, com impactos potencialmente importantes nas populações de vários organismos marinhos. No estudo de Fabry et al. (2008), os autores concluíram que a acidificação dos oceanos e os impactos sinérgicos de outros stressores antrópicos fornecem um grande potencial para mudanças generalizadas nos ecossistemas marinhos. Espera-se que a mudança global substitua as mudanças na química de uma variedade de compostos orgânicos naturais e poluentes ambientais, afetando assim a dinâmica do ecossistema em escala mundial. Prevê-se que as mudanças climáticas globais impactarão adversamente vários ecossistemas em todo o mundo, com repercussões multitróficas, incluindo redução da produção de alimentos humanos, redução da capacidade de absorção de CO<sub>2</sub> e mudanças na composição das espécies e funcionamento do ecossistema (Häder et al., 2007). Além destes efeitos adversos, a acidificação dos oceanos afetará diretamente a química de uma variedade de compostos orgânicos naturais e poluentes ambientais com efeitos potencialmente perigosos para os ecossistemas em escala global (Coelho et al., 2015, 2016b; Louvado et al., 2018). No entanto, o verdadeiro impacto na composição e funcionamento das comunidades microbianas marinhas e na sua função ainda não é claro.

Após um derramamento de óleo, uma pequena fração do óleo se dissolve na água, enquanto o restante forma gotas ou tende a absorver partículas orgânicas e inorgânicas suspensas. Uma grande fração dos hidrocarbonetos tóxicos do óleo, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, acumula-se no sedimento, atingindo concentrações mais elevadas do que na coluna de água (Hayes & Lovley, 2002). A comunidade microbiana do sedimento tem, portanto, um papel fundamental na desintoxicação de todo o ecossistema após um derramamento de óleo. No entanto, até o momento, faltam estudos sobre os efeitos interativos de eventos agudos de poluição por óleo e estratégias de biorremediação nos processos microbianos dos sedimentos e toxicidade em áreas costeiras urbanas sob influência de diferentes cenários de mudanças climáticas.

A capacidade de certos micróbios de usar hidrocarbonetos de petróleo como fonte de carbono e energia torna as comunidades microbianas participantes importantes na desintoxicação e recuperação ambiental (Tabela 2; Head et al., 2006). Além disso, essa capacidade é frequentemente usada para acelerar a recuperação de ecossistemas impactados em um processo conhecido como biorremediação (Tabela 2). Uma das

estratégias mais bem-sucedidas para reduzir a vida útil dos hidrocarbonetos de óleo após derramamentos de óleo é estimular a atividade microbiana adicionando nutrientes (ou outros co-substratos que limitam o crescimento) ao local impactado (biorremediação baseada em bioestimulação) (Bamforth & Singleton, 2005; Head et al., 2006). No entanto, mudanças no pH da água do mar devido à acidificação dos oceanos afetará a estrutura e o funcionamento da comunidade microbiana, o que pode ter consequências no processo ambiental (Coelho et al., 2015; Liu et al., 2010). Os efeitos de tais mudanças ambientais também foram relatados em outros organismos marinhos (Hendriks et al., 2010 e referências citadas; Bhadury, 2015). Estudos anteriores revelaram pela primeira vez que o efeito interativo da redução do pH e da contaminação do óleo pode afetar adversamente a estrutura e o funcionamento das comunidades bentônicas dos sedimentos (micróbios e macroinvertebrados), com o potencial de exacerbar a toxicidade dos hidrocarbonetos do óleo em ecossistemas marinhos (Coelho et al., 2015, 2016a, Louvado et al., 2018). Mais notável, em Coelho et al. (2015) os autores mostraram que a interação entre a redução do pH da água do mar e a contaminação do óleo reduziu drasticamente a abundância relativa de redutores de sulfato atribuídos principalmente dentro do clado Desulfosarcina-Desulfococcus, um grupo-chave envolvido na degradação de alcano anaeróbico (Kleindienst et al., 2014). Este grupo é frequentemente encontrado em abundância relativa elevada em infiltrações de gás e hidrocarbonetos, onde sua atividade pode desempenhar um papel importante para o ciclo de carbono e enxofre *in situ* (Kleindienst et al., 2014). Junto com as mudanças na composição bacteriana, um estudo também demonstrou que mudanças na composição dos hidrocarbonetos aromáticos no sedimento, bem como, efeitos na sobrevivência e stresse oxidativo em macroinvertebrados (*Hedistes diversicolor* e *Peringia ulvae*), indicando potenciais efeitos prejudiciais ao nível do ecossistema (Coelho et al., 2015). No entanto, conjuntamente com a acidificação dos oceanos ainda existem várias questões que ainda precisam ser respondidas: 1) Como as comunidades bentônicas de sedimentos lidarão com a poluição crônica por óleo (por exemplo, áreas costeiras urbanas expostas a transporte intenso e atividades portuárias); 2) Quão eficazes serão as estratégias de biorremediação no oceano do futuro? e 3) quais serão os efeitos interativos de um acidente de derramamento de óleo, redução do pH da água do mar e as abordagens de biorremediação nas comunidades bentônicas de sedimentos (composição, função e ecotoxicologia).

Tabela 2 – Estudos sobre isolados bacterianos com capacidade de degradar hidrocarbonetos em ambientes marinhos.

| Classificação taxonômica do isolado   | Ambiente em que foi isolada  | Hidrocarbonetos que são capazes de degradar   | Referência:                |
|---|--|---|----------------------------|
| <i>Paenarthrobacter</i> sp. GOM3  | Sedimentos marinho no sudoeste do Golfo do México  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Fenantreno e Metabólitos intermediários</li> </ul>   | (Rosas-Díaz et al., 2021)  |
| Estripes bacterianas com máxima afiliação com os géneros <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Ochrobactrum</i> , <i>Brevundimonas</i> , <i>Psychrobacter</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Marinobacter</i> e <i>Curtobacterium</i> .                                 | Culturas seletivas de crescimento com meio mínimo e petróleo em condições subóxicas. Sedimentos estuarinos da Ria de Aveiro, Portugal e Sedimentos de vulcões de lama localizado em mar profundo (4490m; Golfo de Cádiz) serviram como inoculo.                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Isolados cresceram em meio mínimo com petróleo como única fonte de carbono. Todos os isolados foram capazes de produzir biosurfactantes em condições aeróbicas e, um outro em condições anaeróbicas</li> </ul>                         | (Domingues et al., 2020)   |
| Estripes bacterianas com máxima afiliação com os géneros <i>Alteromonas</i> , <i>Marivivens</i> , <i>Pseudoalteromonas</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Shewanella</i> , <i>Photobacterium</i> , <i>Mycobacterium</i> e <i>Pseudomonas</i>  | Sedimentos de praia no mar Caspio (Fereydunkenar, Irão)  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Naftaleno, fenantreno e antraceno.</li> </ul>  | (Ebrahimi et al., 2021)    |
| Estripes bacterianas com máxima afiliação com os géneros <i>Cobetia</i> , <i>Shewanella</i> , <i>Alcanivorax</i> e <i>Cellulosimicrobium</i>  | Corais <i>Porites harrisoni</i> e <i>Simularia</i> sp., amostrados no Golfo Pérsico a uma profundidade 8-10m.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Taxa de degradação de hidrocarbonetos entre 77.3 e 93.5%. Capacidade de degradar alcanos de cadeia medio-longa (C15-C30). Alguns isolados degradaram alcanos de cadeia curta (C11-C14).</li> </ul>                                     | (Ansari et al., 2021)      |
| <i>Alcanivorax</i> sp.  | Sedimentetos de vulcão de lama subaquático a 533m de profundidade no Golfo de Cadis..  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Capacidade de degradadaçao de hidrocarbonetos em ambiente de alta pressão (piezotolerante)</li> </ul>  | (Van Landuyt et al., 2020) |
| 35 estirpes bacterianas afiladas com Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria e Firmicutes. As três estirpes estudadas mais aprofundadamente eram afiliadas com géneros <i>Citricoccus</i> , <i>Isoptricicola</i> e <i>Gordonia</i> . | Erva-marinha, <i>Halophila ovalis</i> , recolhida na Baía da Daya, China. Isolados foram obtidos de culturas de enriquecimento com meio M2 e 216L.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Presença do gene <i>ndo</i>, envolvidos nos processo inicial de oxigenação de hidrocarbonetos aromáticos.</li> <li>Degradam hidrocarbonetos aromáticos pireno, fenantreno e flureno com taxa de degradação entre 31% a 94%.</li> </ul> | (Ahmad et al., 2021)       |
| Nove estirpes bacterianas com máxima afiliação com os géneros <i>Vibrio</i> , <i>Agrivorans</i> e <i>Pseudoalteromonas</i>  | Sedimentos marinhos recolhidos ao longo da costa napolitana no mar Tirreno a aproximadamente 2m de profundidade e naturalmente poluídos por atividade portuário. Isolamento em agar marinho com adição de hidrocarbonetos aromáticos naftaleno, fenantreno e pireno. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Capacidade de degradar hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e tolerância a metais pesados.</li> </ul>   | (Dell'Anno et al., 2021)   |

## 6. Conclusão

Os estudos a respeito dos efeitos da acidificação dos oceanos indicam que pequenas reduções no pH da água do mar podem modificar significativamente a estrutura e função das comunidades microbianas em ecossistemas marinhos. Estes estudos,

levantaram novas questões relacionadas com a forma (função) que as comunidades microbianas do sedimento irão lidar com poluentes em ecossistemas marinhos mais ácidos. Por exemplo, existe ainda a necessidade de compreender melhor de como as comunidades bentônicas irão lidar com a poluição por hidrocarbonetos de óleo e acidificação dos oceanos em áreas cronicamente expostas às atividades antropogênicas (ex., estuários). Além disso, apesar do fato de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos frequentemente carregam MGEs que codificam genes para a degradação de hidrocarbonetos aromáticos, ainda há uma falta de informações sobre a propagação horizontal desses genes e seu papel ecológico em resposta a AO e a contaminação por óleo. Mais além, ainda é pouco conhecido o quão eficaz serão as estratégias de biorremediação ou quais serão os efeitos interativos da contaminação por petróleo e AO na diversidade, composição e função das comunidades microbianas bentônicas. A acidificação dos oceanos irá atuar diretamente sobre a química de uma gama de compostos orgânicos naturais e poluentes ambientais, podendo afetar seriamente os ecossistemas marinhos em todo o mundo. Apesar do grande número de estudos a respeito dos efeitos do impacto do derramamento de petróleo em ambientes marinhos, os impactos sinérgicos causados pela AO e a contaminação crônica por hidrocarbonetos em regiões estuarinas têm sido amplamente subestimadas. Portanto é imprescindível que no futuro mais estudos investiguem os potenciais efeitos da acidificação dos oceanos na diversidade e função das comunidades microbianas nos ambientes marinhos, e suas implicações em ecossistemas estuarinos cronicamente expostos a atividades antropogênicas.

## Referências

- Abdelhaleem, H. A. R., Zein, H. S., Azeiz, A., Sharaf, A. N., & Abdelhadi, A. A. (2019). Identification and characterization of novel bacterial polyaromatic hydrocarbon-degrading enzymes as potential tools for cleaning up hydrocarbon pollutants from different environmental sources. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 67(February), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.02.009>
- Ahmad, M., Ling, J., Yang, Q., Sajjad, W., Zhou, W., Yin, J., & Dong, J. (2021). Insight into Bacterial Community Responses to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and the Degradation Potentials of Three Bacterial Isolates in Seagrass *Halophila ovalis* Sediments. *Current Microbiology*, 1, 3. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02670-y>
- Allemand, D., & Osborn, D. (2019). Ocean acidification impacts on coral reefs: From sciences to solutions. *Regional Studies in Marine Science*, 28, 100558. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100558>
- Ansari, N., Rokhbakhsh-Zamin, F., Hassanshahian, M., & Hesni, M. A. (2021). *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 96(7), 1882–1892. <https://doi.org/10.1002/jctb.6707>
- António, L., Coelho, F. J. R. C., Domingues, P., Santos, A. L., Gomes, N. C. M., Almeida, A., & Cunha, Â. (2012). Isolation of surfactant-resistant pseudomonads from the estuarine surface microlayer. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(3), 283–291. <https://doi.org/10.4014/jmb.1110.10041>
- Avona, A., Capodici, M., Di Trapani, D., Giustra, M. G., Greco Lucchina, P., Lumia, L., Di Bella, G., & Viviani, G. (2022). Preliminary insights about the treatment of contaminated marine sediments by means of bioslurry reactor: Process evaluation and microbiological characterization. *Science of the Total Environment*, 806, 150708. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150708>
- Baig, Z. T., Abbasi, S. A., Memon, A. G., Naz, A., & Soomro, A. F. (2021). Assessment of degradation potential of *Pseudomonas* species in bioremediating soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1002/jctb.6820>
- Bôto, M. L., Magalhães, C., Perdigão, R., Alexandrino, D. A. M., Fernandes, J. P.,

- Bernabeu, A. M., Ramos, S., Carvalho, M. F., Semedo, M., LaRoche, J., Almeida, C. M. R., & Mucha, A. P. (2021). Harnessing the Potential of Native Microbial Communities for Bioremediation of Oil Spills in the Iberian Peninsula NW Coast. *Frontiers in Microbiology*, *12*(April). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.633659>
- Bunse, C., Lundin, D., Karlsson, C. M. G., Akram, N., Vila-Costa, M., Palovaara, J., Svensson, L., Holmfeldt, K., González, J. M., Calvo, E., Pelejero, C., Marrasé, C., Dopson, M., Gasol, J. M., & Pinhassi, J. (2016). Response of marine bacterioplankton pH homeostasis gene expression to elevated CO<sub>2</sub>. *Nature Climate Change*, *6*(5), 483–487. <https://doi.org/10.1038/nclimate2914>
- Burns, C. W., & Galbraith, L. M. (2007). Relating planktonic microbial food web structure in lentic freshwater ecosystems to water quality and land use. *Journal of Plankton Research*, *29*(2), 127–139. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbm001>
- Coelho, F.J.R.C., Louvado, A., Domingues, P. M., Cleary, D. F. R., Ferreira, M., Almeida, A., Cunha, M. R., Cunha, Â., & Gomes, N. C. M. (2016). Integrated analysis of bacterial and microeukaryotic communities from differentially active mud volcanoes in the Gulf of Cadiz. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep35272>
- Coelho, Francisco J.R.C., Cleary, D. F. R., Costa, R., Ferreira, M., Polónia, A. R. M., Silva, A. M. S., Simões, M. M. Q., Oliveira, V., & Gomes, N. C. M. (2016). Multitaxon activity profiling reveals differential microbial response to reduced seawater pH and oil pollution. *Molecular Ecology*, *25*(18), 4645–4659. <https://doi.org/10.1111/mec.13779>
- Coelho, Francisco J R C, Cleary, D. F. R., Rocha, R. J. M., Calado, R., Castanheira, J. M., Rocha, S. M., Silva, A. M. S., Simões, M. M. Q., Oliveira, V., & Lillebø, A. I. (2015). Unraveling the interactive effects of climate change and oil contamination on laboratory-simulated estuarine benthic communities. *Global Change Biology*, *21*(5), 1871–1886.
- Cornwall, C. E., Comeau, S., Kornder, N. A., Perry, C. T., van Hooidek, R., DeCarlo, T. M., Pratchett, M. S., Anderson, K. D., Browne, N., Carpenter, R., Diaz-Pulido, G., D’Olivo, J. P., Doo, S. S., Figueiredo, J., Fortunato, S. A. V, Kennedy, E., Lantz, C. A., McCulloch, M. T., González-Rivero, M., ... Lowe, R. J. (2021). Global declines in coral reef calcium carbonate production under ocean acidification and

- warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(21), e2015265118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2015265118>
- Dai, X., Lv, J., Guo, S., & Wei, W. (2020). Heavy oil biodegradation by mixed bacterial consortium of biosurfactant-producing and heavy oil-degrading bacteria. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(1), 71–80. <https://doi.org/10.15244/pjoes/120769>
- de Scally, S. Z., Chaffron, S., & Makhalanyane, T. P. (2020). Polar opposites; bacterioplankton susceptibility and mycoplankton resistance to ocean acidification. *BioRxiv*, 2020.02.03.933325. <https://doi.org/10.1101/2020.02.03.933325>
- Dell'Anno, F., Rastelli, E., Tangherlini, M., Corinaldesi, C., Sansone, C., Brunet, C., Balzano, S., Ianora, A., Musco, L., Montereali, M. R., & Dell'Anno, A. (2021). Highly Contaminated Marine Sediments Can Host Rare Bacterial Taxa Potentially Useful for Bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 12(March), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.584850>
- Domingues, P. M., Oliveira, V., Serafim, L. S., Gomes, N. C. M., & Cunha, Â. (2020). Biosurfactant production in sub-oxic conditions detected in hydrocarbon-degrading isolates from marine and estuarine sediments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph17051746>
- Doney, S. C., Busch, D. S., Cooley, S. R., & Kroeker, K. J. (2020). The impacts of ocean acidification on marine ecosystems and reliant human communities. *Annual Review of Environment and Resources*, 45, 83–112. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-012320-083019>
- Ebrahimi, V., Eyvazi, S., Montazersaheb, S., Yazdani, P., Hejazi, M. A., Tarhriz, V., & Hejazi, M. S. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by Aquatic Bacteria isolated from Khazar Sea, the world's largest lake. *Pharmaceutical Sciences*, 27(1), 121–130. <https://doi.org/10.34172/PS.2020.28>
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & Delong, E. F. (2008). The microbial engines that drive earth's biogeochemical cycles. In *Science* (Vol. 320, Issue 5879, pp. 1034–1039). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.1153213>

- Fu, X., Qiao, Y., Xue, J., Cheng, D., Chen, C., Bai, Y., & Jiang, Q. (2021). Analyses of community structure and role of immobilized bacteria system in the bioremediation process of diesel pollution seawater. *Science of the Total Environment*, 799, 149439. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149439>
- Fuhrman, J. A. (2009). Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 459(7244), 193–199. <https://doi.org/10.1038/nature08058>
- Hansell, D. A., & Ducklow, H. W. (2003). Bacterioplankton distribution and production in the bathypelagic ocean: Directly coupled to particulate organic carbon export? *Limnologia Oceanography*, 48(1), 150–156.
- Hung, C. M., Huang, C. P., Chen, C. W., & Dong, C. Di. (2021). Hydrodynamic cavitation activation of persulfate for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments. *Environmental Pollution*, 286(February), 117245. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117245>
- Kavitha, A., & Vijayalakshmi, M. (2011). Antibacterial Activity of the Metabolites Produced by Soil Actinobacteria. In 2011.
- Klerks, P. L., Kascak, A., Cazan, A. M., Franco, M. E., & Louka, F. R. (2020). Environmental Toxicology A Mesocosm Assessment of the Effect of Bioturbation by the Ghost Shrimp (*Lepidophthalmus louisianensis*) on the Fate of Petroleum Hydrocarbons in the Intertidal Zone. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(3), 637–647. <https://doi.org/10.1002/etc.4652>
- Laothamteep, N., Naloka, K., & Pinyakong, O. (2022). Bioaugmentation with zeolite-immobilized bacterial consortium OPK results in a bacterial community shift and enhances the bioremediation of crude oil-polluted marine sandy soil microcosms. *Environmental Pollution*, 292(PA), 118309. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118309>
- Li, H., Li, Y., Bao, M., & Li, S. (2021). Solid inoculants as a practice for bioaugmentation to enhance bioremediation of hydrocarbon contaminated areas. *Chemosphere*, 263, 128175. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128175>
- Liu, J., Weinbauer, M. G., Maier, C., Dai, M., & Gattuso, J. P. (2010). Effect of ocean acidification on microbial diversity and on microbe-driven biogeochemistry and ecosystem functioning. *Aquatic Microbial Ecology*, 61(3), 291–305.



<https://doi.org/10.3354/ame01446>

- Louvado, A., Coelho, F. J. R. C., Gomes, H., Cleary, D. F. R., Cunha, Â., & Gomes, N. C. M. (2018). Independent and interactive effects of reduced seawater pH and oil contamination on subsurface sediment bacterial communities. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(32). <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3214-5>
- Louvado, A., Coelho, F. J. R. C., Oliveira, V., Gomes, H., Cleary, D. F. R., Simões, M. M. Q., Cunha, A., & Gomes, N. C. M. (2019). Microcosm evaluation of the impact of oil contamination and chemical dispersant addition on bacterial communities and sediment remediation of an estuarine port environment. *Journal of Applied Microbiology*, 127(1), 134–149. <https://doi.org/10.1111/jam.14261>
- Ma, M., Zheng, L., Yin, X., Gao, W., Han, B., Li, Q., Zhu, A., Chen, H., & Yang, H. (2021). Reconstruction and evaluation of oil-degrading consortia isolated from sediments of hydrothermal vents in the South Mid-Atlantic Ridge. *Scientific Reports*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-80991-5>
- Marzuki, I., Asaf, R., Paena, M., Athirah, A., Nisaa, K., Ahmad, R., & Kamaruddin, M. (2021). Anthracene and Pyrene Biodegradation Performance of Marine Sponge Symbiont Bacteria Consortium. *Molecules*, 26(22), 6851.
- Melliti Ben Garali, S., Sahraoui, I., Ben Othman, H., Kouki, A., de la Iglesia, P., Diogène, J., Lafabrie, C., Andree, K. B., Fernández-Tejedor, M., Mejri, K., Meddeb, M., Pringault, O., & Hlaili, A. S. (2021). Capacity of the potentially toxic diatoms *Pseudo-nitzschia mannii* and *Pseudo-nitzschia hasleana* to tolerate polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 214. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112082>
- Mu, J., Leng, Q., Yang, G., & Zhu, B. (2021). Anaerobic degradation of high-concentration polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 167(1), 112294. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112294>
- Muangchinda, C., Srisuwankarn, P., Boubpha, S., Chavanich, S., & Pinyakong, O. (2020). The effect of bioaugmentation with *Exiguobacterium* sp. AO-11 on crude oil removal and the bacterial community in sediment microcosms, and the development of a liquid ready-to-use inoculum. *Chemosphere*, 250.

<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.126303>

- Murphy, S. M. C., Bautista, M. A., Cramm, M. A., & Hubert, C. R. J. (2021). *Diesel and Crude Oil Biodegradation by Cold-Adapted Microbial Communities in the Labrador Sea*. <https://journals.asm.org/journal/aem>
- Nagata, T., Tamburini, C., Arístegui, J., Baltar, F., Bochdansky, A. B., Fonda-Umani, S., Fukuda, H., Gogou, A., Hansell, D. A., Hansman, R. L., Herndl, G. J., Panagiotopoulos, C., Reinthaler, T., Sohrin, R., Verdugo, P., Yamada, N., Yamashita, Y., Yokokawa, T., & Bartlett, D. H. (2010). Emerging concepts on microbial processes in the bathypelagic ocean – ecology, biogeochemistry, and genomics. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(16), 1519–1536. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.02.019>
- Nelson, K. S., Baltar, F., Lamare, M. D., & Morales, S. E. (2020). Ocean acidification affects microbial community and invertebrate settlement on biofilms. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60023-4>
- Rosas-Díaz, J., Escobar-Zepeda, A., Adaya, L., Rojas-Vargas, J., Cuervo-Amaya, D. H., Sánchez-Reyes, A., & Pardo-López, L. (2021). *Paenarthrobacter* sp. GOM3 Is a Novel Marine Species With Monoaromatic Degradation Relevance. *Frontiers in microbiology*, 2191. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.713702>
- Salazar, G., & Sunagawa, S. (2017). Marine microbial diversity. In *Current Biology* (Vol. 27, Issue 11, pp. R489–R494). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.01.017>
- Sayed, K., Baloo, L., Kutty, S. R. B. M., & Makba, F. (2021). Potential biodegradation of Tapis Light Crude Petroleum Oil, using palm oil mill effluent final discharge as biostimulant for isolated halotolerant *Bacillus* strains. *Marine Pollution Bulletin*, 172(May), 112863. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112863>
- Schreiber, L., Fortin, N., Tremblay, J., Wasserscheid, J., Sanschagrin, S., Mason, J., Wright, C. A., Spear, D., Johannessen, S. C., Robinson, B., King, T., Lee, K., & Greer, C. W. (2021). In situ microcosms deployed at the coast of British Columbia (Canada) to study dilbit weathering and associated microbial communities under marine conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(7). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab082>
- Shi, Y., Fang, H., Li, Y. Y., Wu, H., Liu, R., & Niu, Q. (2021). Single and simultaneous

- effects of naphthalene and salinity on anaerobic digestion: Response surface methodology, microbial community analysis and potential functions prediction. *Environmental Pollution*, 291(September), 118188. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118188>
- Shukla, P. R., Skea, J., Calvo Buendia, E., Masson-Delmotte, V., Pörtner, H. O., Roberts, D. C., Zhai, P., Slade, R., Connors, S., & Van Diemen, R. (2019). *IPCC, 2019: Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems*.
- Sun, X., Chu, L., Mercado, E., Romero, I., Hollander, D., & Kostka, J. E. (2019). Dispersant enhances hydrocarbon degradation and alters the structure of metabolically active microbial communities in shallow seawater from the northeastern gulf of mexico. *Frontiers in Microbiology*, 10(OCT), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02387>
- Szulejko, J. E., Kumar, P., Deep, A., & Kim, K.-H. (2017). Global warming projections to 2100 using simple CO<sub>2</sub> greenhouse gas modeling and comments on CO<sub>2</sub> climate sensitivity factor. *Atmospheric Pollution Research*, 8(1), 136–140.
- Trombetta, T., Vidussi, F., Roques, C., Scotti, M., & Mostajir, B. (2020). Marine Microbial Food Web Networks During Phytoplankton Bloom and Non-bloom Periods: Warming Favors Smaller Organism Interactions and Intensifies Trophic Cascade. *Frontiers in Microbiology*, 11(October), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.502336>
- Turley, C., Eby, M., Ridgwell, A. J., Schmidt, D. N., Findlay, H. S., Brownlee, C., Riebesell, U., Fabry, V. J., Feely, R. A., & Gattuso, J.-P. (2010). The societal challenge of ocean acidification. *Marine Pollution Bulletin*, 60(6), 787–792.
- Van Landuyt, J., Cimmino, L., Dumolin, C., Chatzigiannidou, I., Taveirne, F., Mattelin, V., Zhang, Y., Vandamme, P., Scoma, A., Williamson, A., & Boon, N. (2020). Microbial enrichment, functional characterization and isolation from a cold seep yield piezotolerant obligate hydrocarbon degraders. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(9), 1–15. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa097>
- Voosen, P. (2021). *Global temperatures in 2020 tied record highs*. American Association for the Advancement of Science.

- Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J. C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O., & Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature*, *416*(6879), 389–395. <https://doi.org/10.1038/416389a>
- Wang, Y., Zhang, R., Zheng, Q., Deng, Y., Van Nostrand, J. D., Zhou, J., & Jiao, N. (2016). Bacterioplankton community resilience to ocean acidification: evidence from microbial network analysis. *ICES Journal of Marine Science*, *73*(3), 865–875. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv187>
- Weinbauer, M., Mari, X., & Gattuso, J.-P. (2011). *Effect of ocean acidification on the diversity and activity of heterotrophic marine microorganisms* (pp. 83–98).
- Wöhlbrand, L., Jacob, J. H., Kube, M., Mussmann, M., Jarling, R., Beck, A., Amann, R., Wilkes, H., Reinhardt, R., & Rabus, R. (2013). Complete genome, catabolic sub-proteomes and key-metabolites of *Desulfobacula toluolica* Tol2, a marine, aromatic compound-degrading, sulfate-reducing bacterium. *Environmental Microbiology*, *15*(5), 1334–1355. [https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02885.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02885.x)
- Xu, M., Fu, X., Gao, Y., Duan, L., Xu, C., Sun, W., Li, Y., Meng, X., & Xiao, X. (2020). Characterization of a biosurfactant-producing bacteria isolated from Marine environment: Surface activity, chemical characterization and biodegradation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *8*(5), 104277. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104277>