

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta
dissertação será disponibilizado
somente a partir de 25/02/2027.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E
MICROBIOLOGIA**

**EFEITO DA BIOESTIMULAÇÃO E BIOAUMENTAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO
DE PETRÓLEO EM MESOCOSMOS DE SEDIMENTO MARINHO**

LUCIANA OLIVEIRA PORTO LATSCH

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E
MICROBIOLOGIA**

**EFEITO DA BIOESTIMULAÇÃO E BIOAUMENTAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO
DE PETRÓLEO EM MESOCOSMOS DE SEDIMENTO MARINHO**

LUCIANA OLIVEIRA PORTO LATSCH

Dissertação apresentada ao Instituto de Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular, Molecular e Microbiologia

Orientador: Dra. Lara Durães Sette
Coorientador: Dra. Patrícia Giovanella

**Rio Claro – SP
2026**

L364e

Latsch, Luciana Oliveira Porto

Efeito da bioestimulação e bioaugmentação na biorremediação de petróleo em mesocosmos de sedimento marinho / Luciana Oliveira Porto Latsch. -- Rio Claro, 2026

114 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Lara Durães Sette

Coorientadora: Patrícia Giovanella

1. Biodegradação. 2. Microbiologia ambiental. 3. Biotecnologia. 4. Hidrocarbonetos. 5. Consórcio microbiano. I. Título.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA BIOESTIMULAÇÃO E BIOAUMENTAÇÃO NA BIORREMEDIAÇÃO DE PETRÓLEO EM MESOCOSMOS DE SEDIMENTO MARINHO


AUTORA: LUCIANA OLIVEIRA PORTO LATSCH

ORIENTADORA: LARA DURÃES SETTE
COORIENTADORA: PATRICIA GIOVANELLA


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Diversidade Biológica e Biologia Ambiental pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **LARA DURAES SETTE**
Data: 27/02/2026 18:33:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LARA DURÃES SETTE (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / UNESP / Câmpus de Rio Claro - IB

Documento assinado digitalmente
 **DANIA ELISA CHRISTOFOLETTI MAZZEO MORAI**
Data: 03/03/2026 08:56:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. DÂNIA ELISA CHRISTOFOLETTI MAZZEO MORALES (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal / Centro de Ciências Agrárias - UFSCar - Araras

Documento assinado digitalmente
 **LUCELIA CABRAL**
Data: 01/03/2026 19:03:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LUCÉLIA CABRAL (Participação Virtual)
Pesquisador B (Bolsista Petrobras) / UNESP - Instituto de Geociências e Ciências Exatas de Rio Claro - SP

Rio Claro, 25 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao meu pai, Luciano, à minha mãe, Silvia, e às minhas irmãs, Laís e Letícia, por sempre me incentivarem a seguir meus sonhos, por acreditarem em mim e por me apoiarem independentemente do caminho que eu escolhesse seguir.

Agradeço também ao meu namorado, Gustavo, que esteve ao meu lado em todos os momentos difíceis, por sua paciência, carinho e por ter me ajudado a montar a gaiola dos mesocosmos em pleno final de semana, em um dia de calor típico de Rio Claro. Também sou grata aos amigos que fiz durante o mestrado, especialmente Miguel, Yasmin e Bolani, por fazerem parte deste projeto, ajudando sempre nos experimentos e análises — sem vocês, não teria sido possível. Aos demais integrantes do LAMAI, agradeço pelos momentos de risadas, conversas e descontração.

Agradeço à minha orientadora, Professora Dra. Lara Durães Sette, por me dar esta oportunidade e confiar em mim, mesmo quando ainda não sabíamos se o mestrado daria certo, e por toda a ajuda com a pesquisa, burocracias, correrias, ensinamentos e liderança. Também deixo meu sincero “muito obrigada” à Dra. Patrícia Giovanella, por sua paciência ao me ensinar, por estar presente no dia a dia, por ajudar na bancada, compartilhar suas experiências, esclarecer minhas centenas de dúvidas e orientar-me ao longo desta jornada. Sou muito grata a vocês, de coração.

Agradeço à Elisa, que contribuiu para a análise do GC-MS e também para as análises do *metabarcoding*, em conjunto com a Professora Milene, que foi essencial nas análises de bioinformática.

Por fim, agradeço aos órgãos de fomento que possibilitaram a realização deste projeto: o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto MicroBioMarR (CNPq 440774/2020-9), e a CAPES pelo financiamento da bolsa de mestrado. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Em 2019, ocorreu um dos maiores desastres ambientais do Brasil, com o derramamento estimado entre 5 e 12,5 milhões de litros de petróleo, que atingiu 11 estados da costa brasileira, causando impactos nos ecossistemas marinhos e à saúde humana. Diante disso, busca-se aprimorar técnicas capazes de mitigar esses danos. A biorremediação consiste na utilização do metabolismo microbiano para biodegradação desses compostos nocivos e vem sendo amplamente difundida. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo principal avançar no conhecimento acerca da biodegradação de petróleo em sedimentos marinhos em escala de mesocosmos. Sendo assim, o experimento foi conduzido com o objetivo de comparar o tratamento de bioestimulação associado à bioaugmentação (BA+BE) com a atenuação natural (AN). Os ensaios foram realizados em aquários de vidro de 20 L, contendo 15 kg de sedimentos marinhos artificialmente contaminados com 1% de petróleo bruto, ambos em triplicata e mantidos por 90 dias à temperatura ambiente. O tratamento BA+BE consistiu na inoculação de um consórcio de microrganismos de origem marinha, associado à suplementação nutricional (nitrogênio e fósforo), enquanto o tratamento de AN foi mantido sem intervenções. Ao longo do período experimental, o processo de biorremediação foi monitorado nos tempos 0, 15, 45 e 90 dias, por meio de análises de degradação de alcanos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), fitotoxicidade, atividade de desidrogenases, contagem de microrganismos degradadores (NMP) e caracterização da comunidade microbiana por *metabarcoding*. O consórcio microbiano composto por *Acinetobacter beijerinckii* 28, *Microbacterium oleivorans* M9, *Sphingobium xenophagum* 41, *Alcanivorax* sp. 85C e *Paramarasmius palmivorus* CRM 593, juntamente com a adição de nutrientes, demonstraram alta eficiência na degradação de hidrocarbonetos. A maior atividade das desidrogenases foi observada aos 15 dias, nos tratamentos BA+BE que receberam o consórcio microbiano e os nutrientes (24,70 µg de TFP.g⁻¹ de sedimento). Esse resultado também foi acompanhado pelo aumento da contagem de microrganismos degradadores (NMP) e pelas altas taxas de remoção de alcanos (75,87%) e HPAs (84,47%). Por outro lado, o tratamento AN não apresentou degradação significativa nesse período inicial. Após 90 dias, observaram-se variações nas taxas de remoção e diferenças estatísticas entre BA+BE e AN para ambos os hidrocarbonetos, com melhor desempenho do tratamento BA+BE, que apresentou remoção de 91,25% de HPAs e 86,62% de alcanos, enquanto o tratamento AN alcançou 78,45% de remoção de HPAs e 57,15% de alcanos. Após 90 dias, observaram-se variações nas taxas de remoção e diferenças estatísticas entre BA+BE e AN para ambos os hidrocarbonetos, com melhor desempenho do tratamento BA+BE. Já nos ensaios de fitotoxicidade, a maior taxa de inibição em *Cucumis sativus* foi registrada nos tratamentos BA+BE aos 15 e 45 dias. Porém, após 90 dias de biorremediação, a fitotoxicidade foi significativamente reduzida. As análises de *metabarcoding* evidenciaram a forte capacidade de adaptação da comunidade autóctone, além da presença de microrganismos com potencial degradador, incluindo bactérias dos gêneros *Marinobacter*, *Pseudomonas* e *Idiomarina*, bem como fungos dos gêneros *Cladosporium* e *Epicoccum*. Os resultados obtidos indicam que a combinação das estratégias de bioaugmentação e bioestimulação configura uma abordagem promissora para a recuperação de ambientes marinhos contaminados, contribuindo tanto para a degradação do petróleo quanto para a aceleração do processo de remediação.

Palavras-chave: biodegradação, hidrocarbonetos, consórcio microbiano, biotecnologia ambiental, comunidade microbiana

ABSTRACT

In 2019, one of the largest environmental disasters in Brazil occurred, involving an estimated spill of between 5 and 12.5 million liters of oil, which affected 11 states along the Brazilian coast and impacted marine ecosystems and human health. Given this, efforts are underway to improve techniques for mitigating these damages. Bioremediation uses microbial metabolism to biodegrade harmful compounds and is becoming increasingly common. In this context, the main objective of this study was to advance knowledge about the biodegradation of petroleum in marine sediments on a mesocosm scale. Therefore, the experiment was conducted with the objective of comparing biostimulation treatment associated with bioaugmentation (BS+BA) with natural attenuation (NA). The assays were carried out in 20-L glass aquaria containing 15 kg of marine sediments artificially contaminated with 1% crude oil. Both treatments were performed in triplicate and maintained for 90 days at room temperature. The BA+BE treatment consisted of inoculating a consortium of microorganisms of marine origin, associated with nutritional supplementation (nitrogen and phosphorus), while the NA treatment was maintained without interventions. Throughout the experimental period, the bioremediation process was monitored at 0, 15, 45, and 90 days through analyses of alkane and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation, phytotoxicity, dehydrogenase activity, count of hydrocarbon-degrading microorganisms (MPN), as well as the characterization of microbial community by metabarcoding. The microbial consortium composed of *Acinetobacter beijerinckii* 28, *Microbacterium oleivorans* M9, *Sphingobium xenophagum* 41, *Alcanivorax* sp. 85C, and *Paramarasmium palmivorus* CRM 593, along with the addition of nutrients, showed high efficiency in hydrocarbon degradation. The highest dehydrogenase activity was observed at 15 days in the BA+BE treatments that received the microbial consortium and nutrients (24.70 $\mu\text{g TFP g}^{-1}$ of sediment). This result was accompanied by an increase in the count of hydrocarbon-degrading microorganisms (MPN) and high removal rates of alkanes (75.87%) and PAHs (84.47%). On the other hand, the NA treatment did not show significant degradation in this initial period. After 90 days, variations in removal rates and statistical differences were observed between BA+BE and NA for both classes of hydrocarbons, with better performance from the BA+BE treatment, which achieved removal of 91.25% of PAHs and 86.62% of alkanes, whereas the NA treatment achieved 78.45% removal of PAHs and 57.15% of alkanes. In the phytotoxicity assays, the highest inhibition rates in *Cucumis sativus* were recorded in the BS+BA treatments at 15 and 45 days. However, after 90 days of bioremediation, phytotoxicity was significantly reduced. Metabarcoding analyses revealed the strong adaptability of the autochthonous community, as well as the presence of microorganisms with degradation potential, including bacteria of the genera *Marinobacter*, *Pseudomonas*, and *Idiomarina*, and fungi of the genera *Cladosporium* and *Epicoccum*. The results indicate that the combination of bioaugmentation and biostimulation strategies constitutes a promising approach for the recovery of contaminated marine environments, contributing both to degradation of petroleum and to the acceleration of the remediation process.

Keywords: biodegradation, hydrocarbons, microbial consortium, environmental biotechnology, microbial community

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura dos principais hidrocarbonetos	17
Figura 2 - Regiões Brasileiras afetadas pelo derramamento de petróleo.....	19
Figura 3 - Número médio de derramamentos de petróleo por navios-tanque no período de 1970 a 2024	23
Figura 4 - Principais classes de fatores que influenciam a remediação bacteriana de hidrocarbonetos no solo.....	27
Figura 5 – Ação das monooxigenases e dioxigenases.....	29
Figura 6 - (A) Biodegradação de hidrocarbonetos alifáticos (n-alcenos) por oxidação do grupo metil subterminal; (B) Do grupo metil terminal.....	31
Figura 7 - Vias metabólicas bacterianas para a degradação de hidrocarbonetos aromáticos.....	33
Figura 8 - Diferentes vias de degradação aeróbia de um HPA genérico por fungos.....	36
Figura 9 - Exemplo de vias de degradação anaeróbia de alcanos	37
Figura 10 - (A) localização geográfica de onde foram realizadas as coletas das amostras; (B) realização da coleta do sedimento.....	39
Figura 11 - (A) Mesocosmos montados; (B) Estrutura metálica onde ficaram os mesocosmos.....	42
Figura 12 - Atividade das desidrogenases ao longo do tempo	43
Figura 13 - Contagem de microrganismos degradadores de hidrocarbonetos ao longo do tempo.....	54
Figura 14 - Percentual de inibição (%) da somatória da raiz e do hipocótilo em <i>Cucumis sativus</i> durante o processo de biorremediação ao longo do tempo	57
Figura 15 - Avaliação do pH	58
Figura 16 - Concentrações total de alcanos analisados nos tempos 0, 15, 45 e 90 dias	60
Figura 17 - Concentrações total de HPAs analisados nos tempos 0, 15, 45 e 90 dias	61
Figura 18 - Índices de diversidade alfa da comunidade fúngica	74
Figura 19 - Diagrama de Venn da soma do número de ASV fúngicas	75
Figura 20 - Diversidade beta das comunidades fúngicas (Bray-Curtis)	76
Figura 21 - Diversidade beta das comunidades fúngicas (Sorensen)	77
Figura 22 - Abundância relativa dos principais gêneros das comunidades fúngicas	80
Figura 23 - Índices de diversidade alfa da comunidade bacteriana	86
Figura 24 - Diagrama de Venn da soma do número de ASV bacterianas	87
Figura 25 - Diversidade beta das comunidades bacterianas (Bray-Curtis)	88
Figura 26 - Diversidade beta das comunidades bacteriana (Sorensen)	89
Figura 27 - Abundância relativa dos principais gêneros das comunidades bacterianas	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Derramamentos de petróleo ocorridos no Brasil de 1960 até 2023	20
Tabela 2 - Dados relacionados aos microrganismos do consórcio aplicado no presente estudo.	40
Tabela 3 - Caracterização granulométrica do sedimento.....	50
Tabela 4 - Caracterização química do sedimento.	50
Tabela 5 - Níveis de classificação do material seco a ser dragado em águas salinas/salobras...51	
Tabela 6 - Concentrações das moléculas de alcanos obtidas com a extração realizada nas amostras dos 15 dias	63
Tabela 7 - Concentrações das moléculas de alcanos obtidas com a extração realizada nas amostras dos 45 dias	65
Tabela 8 - Concentrações das moléculas de alcanos obtidas com a extração realizada nas amostras dos 90 dias	67
Tabela 9 - Concentrações das moléculas de HPAs obtidas com a extração realizada nas amostras dos 15 dias	68
Tabela 10 - Concentrações das moléculas de HPAs obtidas com a extração realizada nas amostras dos 45 dias	69
Tabela 11 - Concentrações das moléculas de HPAs obtidas com a extração realizada nas amostras dos 90 dias	70
Tabela 12 - Índices de diversidade alfa da comunidade de fungos	73
Tabela 13 - Índices de diversidade alfa da comunidade de bactérias	83

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

AN/ATN	Atenuação natural
ANOVA	Análise de Variância
ASV	<i>Amplicon Sequence Variant</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BA+BE/BA_BE	Bioaugmentação + bioestimulação
GC-MS	<i>Gas Chromatography–Mass Spectrometry</i>
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
FPSO	<i>Floating Production Storage and Offloading</i>
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HTP	Hidrocarbonetos totais de petróleo
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
NMP	Número mais provável
PCoA	Análise de coordenadas principais
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PERMANOVA	Análise Multivariada de Variância Permutacional
qPCR	<i>quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
TCA	<i>Tricarboxylic Acid Cycle</i>
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
TFP	Trifenilformazan
TTC	Cloreto de 2,3,5 – trifeniltetrazólio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	O petróleo e seu impacto ambiental, social e na saúde humana.....	16
2.2	Biorremediação.....	25
2.3	Genes, enzimas e outros mecanismos microbianos relacionados à biodegração de hidrocarbonetos	28
3	OBJETIVOS	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Abordagem selecionada para a biorremediação	38
4.2	Coleta e caracterização do sedimento.....	39
4.3	Microorganismos	39
4.4	Preparação dos microrganismos	41
4.5	Montagem dos mesocosmos.....	41
4.6	Análises funcionais durante a biodegração do petróleo	43
4.6.1	Análise da atividade enzimática das desidrogenases	43
4.6.2	Contagem de microrganismos degradadores (NMP).....	44
4.6.3	Análise da fitotoxicidade	44
4.6.4	Análise do pH	45
4.6.5	Degradação quantitativa de petróleo	45
4.7	Caracterização das comunidades microbianas	46
4.7.1	<i>Metabarcoding</i>	46
4.8	Análises estatísticas	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	Composição físico-química do sedimento.....	49
5.2	Atividade das desidrogenases.....	51
5.3	Contagem de microrganismos degradadores (NMP).....	53
5.4	Fitotoxicidade em <i>Cucumis sativus</i>	55
5.5	Degradação do petróleo bruto (GC-MS).....	59
5.6	Avaliação da comunidade microbiana (<i>metabarcoding</i>).....	71
5.6.1	Diversidade alfa e beta da comunidade fúngica	72
5.6.1.1	Classificação taxonômica dos fungos	78
5.6.2	Diversidade alfa e beta da comunidade bacteriana	83

5.6.2.1	Classificação taxonômica das bactérias	90
5.6.3	Aspectos gerais sobre o <i>metabarcoding</i>	95
6	CONCLUSÕES.....	96
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Com o advento da modernidade e a busca constante pelo progresso industrial, o petróleo se tornou extremamente importante durante o século XX, sendo um dos grandes responsáveis por sustentar a economia global até os dias atuais (VASSILIOU, 2018). O petróleo é a base para a produção energética de diversos países, resultando na produção de gasolina, diesel, lubrificantes, materiais de construção, defensivos agrícolas e até mesmo medicamentos (FRANCO *et al.*, 2021). Para ter acesso a estes subprodutos, é necessário passar pela perfuração, extração, produção, transporte, refino, processamentos químicos, distribuição e armazenamento. E é justamente nesses processos, seja em decorrência de vazamentos naturais, colisão acidental, naufrágios, falhas em oleodutos ou em plataformas petrolíferas, operações de transferência entre navios ou descarga de efluentes de refinarias, que ocorre a poluição ambiental por hidrocarbonetos, principalmente em ambientes marinhos (DISNER & TORRES, 2020; KERAMEA *et al.*, 2021).

Entre 1990 e 2024, foram registrados 639 derramamentos de petróleo, resultando no lançamento de aproximadamente 1.532.000 toneladas de petróleo nos oceanos durante o transporte por navios-tanque (ITOPF, 2024). Um dos mais antigos acidentes já documentados aconteceu em 1967, no litoral da Inglaterra, com o naufrágio do navio *Torrey Canyon* com 120 toneladas de óleo derramadas. Destaca-se também o vazamento do navio *Amoco Cadiz* em 1978, na França; e o derramamento de óleo do petroleiro *Exxon Valdez* em 1989, no Alasca (NORONHA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2021). Também há acidentes importantes mais recentes como, por exemplo, o ocorrido no Golfo do México em 2010, considerado o maior derramamento de petróleo marinho da história dos Estados Unidos. Decorrente de uma explosão na plataforma *Deepwater Horizon*, o evento resultou no vazamento contínuo de petróleo em águas profundas, liberando cerca de 4,9 milhões de barris. O derramamento afetou negativamente uma vasta área do ecossistema marinho, gerando severos impactos ambientais, econômicos e sociais (DENIC-ROBERTS *et al.*, 2022). No Brasil, em 30 de agosto de 2019, ocorreu um dos maiores desastres ambientais com petróleo do mundo, atingindo, aproximadamente, 4.334 km da costa brasileira, alcançando 11 estados da região Nordeste e Sudeste, 120 municípios e 724 localidades (PENA *et al.*, 2020).

Devido aos seus efeitos nocivos como a baixa degradabilidade, bioacumulação, biomagnificação ao longo da cadeia alimentar e a toxicidade, os hidrocarbonetos representam um dos maiores perigos para a saúde humana e para os ecossistemas marinhos e por isso, o petróleo encontra-se entre os poluentes mais preocupantes da atualidade (GAMBINO *et al.*,

2019). Algumas das consequências da exposição a este poluente incluem efeitos negativos em diversos sistemas biológicos como o hematológico, renal, hepático, respiratório e neurológico. Esses compostos podem reduzir a imunidade, aumentar o risco de câncer, comprometer a função reprodutiva e causar irritações na pele, nos olhos e em outras áreas do corpo (AL-RUBAYE *et al.*, 2023). Além disso, o petróleo é um dos responsáveis pelo agravamento do efeito estufa e do aquecimento global, pela poluição do ar, do solo, da água, e acarreta completa destruição de ecossistemas marinhos e terrestres, incluindo a redução da biodiversidade (FRANCO *et al.*, 2021).

Conseqüentemente, nos últimos anos, vêm sendo analisadas formas de minimizar os impactos ambientais do petróleo. Sendo assim, a biorremediação surge como uma alternativa ecologicamente correta, não invasiva, mais barata e altamente favorável à biodegradação de hidrocarbonetos e de poluentes orgânicos provenientes de resíduos industriais, além da biotransformação/bioacumulação de metais pesados. A biorremediação consiste na utilização de microrganismos (e.g. bactérias, fungos filamentosos, microalgas, leveduras) que, por apresentarem diferentes vias metabólicas (anaeróbias e aeróbias) e enzimas, tornam-se aptos para biodegradar ou biotransformar essas substâncias em compostos menos nocivos. Ainda que os microrganismos sejam extremamente pertinentes nesse processo, existem diversos fatores abióticos e bióticos que influenciam e podem dificultar a biorremediação, incluindo o tipo de solo/sedimento, temperatura, pH, nutrientes, fontes de carbono e nitrogênio, tipos de microrganismos (individuais ou em consórcios), antagonismo entre as espécies, propriedades físico-químicas, dentre outros (GARG *et al.*, 2012; BABU *et al.*, 2019; BALA *et al.*, 2022).

Sabendo-se dos prejuízos e danos ambientais acarretados pelo derramamento de petróleo e tendo em vista a existência de diversos estudos sobre sua degradação, percebe-se que ainda não se sabe muito sobre as respostas microbianas durante o processo de degradação e destoxificação dos hidrocarbonetos, ou seja, qual a diversidade microbiana e a dinâmica das comunidades microbianas durante o processo. Desta forma, se torna necessário o uso de análises multidisciplinares para o aprofundamento dos estudos, envolvendo áreas da biologia molecular, genética, microbiologia, bioinformática e estudos em escalas de mesocosmos.

Segundo Stewart e colaboradores (2013) os mesocosmos diferem dos microcosmos em relação ao seu tamanho. Embora possam apresentar ampla variação volumétrica, são geralmente definidos como sistemas experimentais a partir de 1 L. Além disso, podem ser classificados como pequenos ($< 10^2$ L), médios (10^2-10^4 L) ou grandes ($> 10^4$ L). Ressalta-se ainda que os estudos em mesocosmos representam uma abordagem intermediária entre os

experimentos realizados em laboratórios e estudos de campo, permitindo o controle seletivo de algumas variáveis (como a presença de poluentes, níveis de umidade, concentração de nutrientes, dentre outras) ao mesmo tempo que proporcionam um cenário mais próximo da realidade. Sabendo disso, os mesocosmos se tornam uma ferramenta extremamente vantajosa, pois possibilitam a aplicação de testes controlados que utilizam poluentes, sem a liberação direta dessas substâncias em habitats naturais, evitando prejuízos ambientais. Com isso, desempenham um papel importante para ampliar o conhecimento acerca dos ecossistemas aquáticos, principalmente marinhos, possibilitando a investigação da exposição a metais pesados, derramamentos de petróleo, acidificação e dos impactos das mudanças climáticas (SHARMA *et al.*, 2021).

Albarano e colaboradores (2020) reconhecem a importância dos estudos em mesocosmos, mas destacam alguns obstáculos que dificultam a aplicação dessa metodologia, como o alto custo, a complexidade para sua reprodução e os desafios na condução dos experimentos, o que contribui para sua menor presença na literatura científica. Com isso, este estudo visa avaliar a bioaugmentação associada com bioestimulação na biodegradação de petróleo bruto em mesocosmos. Para isso, foi empregado o consórcio microbiano composto por *Acinetobacter beijerinckii* 28, *Microbacterium oleivorans* M9, *Sphingobium xenophagum* 41, *Alcanivorax* sp. 85C e *Paramarasmius palmivorus* CRM 593, previamente estudado em escala de microcosmos pela equipe MicroBioMaR. Durante o processo de biodegradação foram feitas análises funcionais como a degradação de alcanos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), fitotoxicidade, análise das desidrogenases, número mais provável (NMP) de microrganismos degradadores e sequenciamento massivo para compreensão das estruturas das comunidades microbianas ao longo do tempo (*metabarcoding*).

O presente estudo está associado ao projeto CNPq 440774/2020-9 intitulado “Biorremediação de petróleo em sedimentos e água do mar: estrutura e função de comunidades microbianas (MicroBioMaR)”, sob a coordenação da Profa. Dra. Lara D. Sette (UNESP/Rio Claro) em desenvolvimento no âmbito da Chamada CNPq/MCTI 06/2020 – Pesquisa e Desenvolvimento para Enfrentamento de Derramamento de Óleo na Costa Brasileira - Programa Ciência no Mar do MCTI.

6. CONCLUSÕES

Neste estudo, foi avaliada a eficácia da bioaumentação associada à bioestimulação (BA+BE) em comparação à atenuação natural (AN) na recuperação de sedimentos marinhos contaminados com petróleo. Foi utilizado um consórcio microbiano de origem marinha composto por quatro bactérias (*Acinetobacter beijerinckii*, *Microbacterium oleivorans*, *Sphingobium xenophagum*, *Alcanivorax* sp.) e um fungo (*Paramarasmius palmivorus*) para investigar a capacidade de degradar hidrocarbonetos em escala de mesocosmos. Ambos os tratamentos mostraram boa eficiência na degradação de alcanos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), com destaque para BA+BE, que apresentou maior remoção nos primeiros 15 dias, período em que a adição de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e do consórcio microbiano pode ter potencializado a degradação inicial. Uma segunda inoculação aos 45 dias mostrou-se pouco relevante.

A integração dos dados microbiológicos, fitotóxicos, de degradação e de *metabarcoding* demonstrou que no tratamento BA+BE houve uma redução rápida de alcanos e HPAs nos primeiros 15 dias, a qual coincidiu com picos de atividade das desidrogenases e aumento do número mais provável (NMP) de microrganismos degradadores, indicando intensa atividade metabólica inicial. Essa fase também apresentou alta fitotoxicidade, sugerindo a formação de metabólitos intermediários tóxicos durante a degradação acelerada do petróleo ou ainda aumento da biodisponibilidade do petróleo. Com o avanço do processo, a atividade enzimática e a abundância de microrganismos degradadores diminuíram gradualmente, refletindo o consumo das frações mais biodisponíveis e a predominância de compostos mais recalcitrantes.

Paralelamente, o *metabarcoding* revelou uma forte adaptação da comunidade microbiana autóctone, evidenciada pelo seu predomínio em relação aos microrganismos introduzidos do consórcio. No tratamento AN, observa-se uma diminuição nos índices de Evenness, Shannon e Simpson a partir dos 45 dias, indicando que alguns táxons passaram a dominar e a diversidade fúngica diminuiu ao longo do tempo, tornando a comunidade menos equilibrada. Em contraste, no tratamento BA+BE, esses índices permanecem estáveis e sem diferença significativa ao longo do tempo, indicando uma comunidade fúngica mais estável.

Na comunidade bacteriana, o tratamento BA+BE iniciou o experimento com elevada diversidade, que se manteve nos primeiros períodos, mas apresentou uma queda acentuada aos 90 dias, refletida também nos demais índices, indicando perda da estabilidade e da diversidade da comunidade bacteriana. Esse comportamento pode ser explicado pelo consumo rápido dos hidrocarbonetos leves até os 15 dias, restando predominantemente compostos mais recalcitrantes, que exigem microrganismos especializados capazes de utilizá-los como fonte de carbono. Por outro lado, o tratamento AN teve uma diminuição significativa da riqueza e diversidade nos primeiros 15 dias do experimento, porém com estabilização dos índices nos períodos subsequentes, indicando uma adaptação inicial da comunidade bacteriana à presença do petróleo, seguida de estabilidade nos tempos posteriores.

Entre os gêneros mais representativos da comunidade fúngica, *Cladosporium*, *Epicoccum* e *Nigrospora* destacaram-se em praticamente todos os tratamentos e tempos avaliados, sendo os dois primeiros reconhecidos por sua capacidade de degradação de hidrocarbonetos. Já na comunidade bacteriana, os gêneros *Pseudomonas*, *Halomonas*, *Idiomarina* e *Immundisolibacter* foram predominantes, sendo conhecidos por degradarem tanto alcanos quanto hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

Sendo assim, mesmo com a baixa dominância do consórcio, a degradação dos hidrocarbonetos reduziu significativamente a toxicidade ao final do experimento, sustentada por táxons tolerantes e metabolicamente versáteis, favorecendo a recuperação ambiental do sistema. Em suma, os resultados evidenciam que o tratamento BA+BE representa uma alternativa promissora para a restauração de ambientes marinhos impactados por derramamentos de petróleo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASIAN, F., LOCKINGTON, R., MALLAVARAPU, M., & NAIDU, R. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 176, p. 670-699, 2015.
- ABHA, S.; SINGH, C. S. Hydrocarbon pollution: effects on living organisms, remediation of contaminated environments, and effects of heavy metals co-contamination on bioremediation. **Introduction to enhanced oil recovery (EOR) processes and bioremediation of oil-contaminated sites**, v. 318, 2012.
- ACHARYA, S. M. et al. *Iodidimonas*, a bacterium unable to degrade hydrocarbons, thrives in a bioreactor treating oil and gas produced water. **BioRxiv**, p. 2023.03. 02.530844, 2023.
- ADEDEJI, J. A. et al. Microbial bioremediation and biodegradation of petroleum products—a mini review. **Applied Sciences**, v. 12, n. 23, p. 12212, 2022.
- AHMAD, M. et al. Insight into bacterial community responses to aromatic hydrocarbons and the degradation polycyclic potentials of three bacterial isolates in seagrass *Halophila ovalis* sediments. **Current Microbiology**, v. 78, n. 12, p. 4084-4097, 2021.
- AHMED, S.; KUMARI, K.; SINGH, D. Different strategies and bio-removal mechanisms of petroleum hydrocarbons from contaminated sites. **Arab Gulf Journal of Scientific Research**, v. 42, n. 2, p. 342-358, 2024.
- ALBARANO, L., COSTANTINI, M., ZUPO, V., LOFRANO, G., GUIDA, M., & LIBRALATO, G. Marine sediment toxicity: a focus on micro-and mesocosms towards remediation. **Science of The Total Environment**, v. 708, p. 134837, 2020.
- ALEF, K. Dehydrogenase activity. In: ALEF, K. and NANNIPIERI, P.. Editors, Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry, **AcademyPress**, London, p. 228-231, 1995.
- AL FARRAJ, D. A. et al. Exploring the potential of halotolerant bacteria for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 43, n. 12, p. 2305-2314, 2020.
- AL HAJ, C., B.; ALI A., F.; SALAM, D. A. Biodegradation of petroleum tar in contaminated sediments of the Eastern Mediterranean shores and associated microbial dynamics. **Applied and Environmental Microbiology**, p. e00258-25, 2025.
- ALORI, E. T. et al. Bioremediation techniques as affected by limiting factors in soil environment. **Frontiers in Soil Science**, v. 2, p. 937186, 2022.
- ALAO, M. B.; ADEBAYO, E. A. Fungi as veritable tool in bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-polluted wastewater. **Journal of Basic Microbiology**, v. 62, n. 3-4, p. 223-244, 2022.
- AL-RUBAYE, A. H. et al. The impacts of petroleum on environment. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, p. 032014, 2023.

AMORIM, E. P. **Avaliação da concentração de metais e outros elementos de interesse em amostras de sedimentos dos estuários de Santos/São Vicente e Cananéia, Estado de São Paulo, Brasil.** 2012. Tese de Doutorado. Ph. D. thesis, Universidade de São Paulo <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-16012013-142056/publico/2012AmorimAvaliacao.pdf>>

AMRAN, R.H. et al. Biodegradation and Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems by Microorganisms: A Review. **Nature Environment & Pollution Technology**, v. 21, n. 3, 2022.

ARAGÃO, L. H. do A. et al. Instrumentos de avaliação dos impactos de derramamentos de petróleo: abordagem integrada na saúde, no ambiente e no perfil socioeconômico de áreas expostas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 41, p. e00228723, 2025.

AZHARY, N.; HAMID, A. A. A.; ASHAARI, M. M. Molecular Recognition of Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) by Naphthalene Dioxygenase through the Action of Rhamnolipid: PAHs Recognition by NDO with Rhamnolipid. **Journal of Tropical Life Science**, v. 14, n. 3, p. 429-446, 2024.

BABU, A. G., REJA, S. I., AKHTAR, N., SULTANA, M., DEORE, P. S., & ALI, F. I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): current practices and outlook. **Microbial metabolism of xenobiotic compounds**, p. 189-216, 2019.

BAHAR, M. M. et al. Residual hydrocarbons in long-term contaminated soils: implications to risk-based management. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 15, p. 22759-22773, 2024.

BAKRI, M. Assessing some *Cladosporium* species in the biodegradation of petroleum hydrocarbon for treating oil contamination. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 6, p. 3296-3306, 2022.

BALA, S., GARG, D., THIRUMALESH, B. V., SHARMA, M., SRIDHAR, K., INBARAJ, B. S., & TRIPATHI, M. Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants: a review for a green and sustainable environment. **Toxics**, v. 10, n. 8, p. 484, 2022.

BAMI, S. M., RAEISI ESTABRAGH, M. A., OHADI, M., BANAT, I. M., & DEHGHANNOUDEH, G. Biosurfactants aided bioremediation mechanisms: A mini-review. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 31, n. 7, p. 801-817, 2022.

BEHERA, A. D.; DAS, S. Ecological insights and potential application of marine filamentous fungi in environmental restoration. Reviews in **Environmental Science and Bio/Technology**, v. 22, n. 2, p. 281-318, 2023.

BISPO, Y. M. Estratégias de biorremediação de petróleo em microcosmos de sedimento marinho: função e estrutura das comunidades microbianas. 2025.

BHATT, J. K., GHEVARIYA, C. M., DUDHAGARA, D. R., RAJPARA, R. K., & DAVE, B. P. Application of response surface methodology for rapid chrysene biodegradation by newly isolated marine-derived fungus *Cochliobolus lunatus* strain CHR4D. **Journal of Microbiology**, v. 52, p. 908-917, 2014.

BONOTTO, D. M. Geochemical indices and sedimentation rates in the Pardo River basin, São Paulo State, Brazil. **International Journal of Sediment Research**, v. 39, n. 5, p. 804-824, 2024.

BRADDOCK, J. F.; CATTERALL, P. H. A simple method for enumerating gasoline- and diesel-degrading microorganisms. **Bioremediation Journal**, 3(2), 81-84 (1999).

BRAZKOVA, M. et al. Ligninolytic enzymes in Basidiomycetes and their application in xenobiotics degradation. In: **BIO Web of Conferences**. EDP Sciences, 2022. p. 02009.

BRESTOVIČOVÁ, S. et al. Comparative genomic analysis of two putative novel *Idiomarina* species from hypersaline miocene deposits. **BMC genomics**, v. 25, n. 1, p. 1007, 2024.

CABRAL, L., GIOVANELLA, P., PELLIZZER, E. P., TERAMOTO, E. H., KIANG, C. H., & SETTE, L. D. Microbial communities in petroleum-contaminated sites: Structure and metabolisms. **Chemosphere**, v. 286, p. 131752, 2022.

CANUL-CHAN, M., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, M., GONZÁLEZ-BURGOS, A., ZEPEDA, A., & ROJAS-HERRERA, R. Population structures shift during the biodegradation of crude and fuel oil by an indigenous consortium. **International journal of environmental science and technology**, v. 15, p. 1-16, 2018.

CARDOSO, M. S. F. et al. Technological Scenario of Hydrocarbon Bioremediation Assisted by the Use of Fungi and Plant Extracts: Technological Prospecting. 2021.

CARLOS, A. C. Prospecção de microrganismos e genes envolvidos na biodegradação de petróleo e derivados, 2019.

CARVALHO, M. de A. R. et al. Comparative analysis of sediment quality indices using different reference values in an environmental protection area in Southeastern Brazil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 46, n. 5, p. 154, 2024.

CASSOL, I.; IBÁÑEZ, M.; BUSTAMANTE, J. P. Key features and guidelines for the application of microbial alpha diversity metrics. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 622, 2025.

CASTRO, L. G. Z. de et al. Microbial Community Analysis of the Brazilian Coast Affected by the Mysterious Oil Spill: New Insight on the Oil Fingerprint and Potential Biodegraders. Available at SSRN 4384888, 2023.

CHAKRABORTY, D. et al. Rare taxa in the core microbiome. **Trends in Microbiology**, 2025.

CHEN, X., SHAN, G., SHEN, J., ZHANG, F., LIU, Y., & CUI, C. In situ bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil: Isolation and application of a *Rhodococcus* strain. **International Microbiology**, v. 26, n. 2, p. 411-421, 2023.

CHETTRI, D. et al. Metagenomic approaches in bioremediation of environmental pollutants. **Environmental Pollution**, v. 363, p. 125297, 2024.

CHIKERE, C. B.; FENIBO, E. O. Distribution of PAH-ring hydroxylating dioxygenase genes in bacteria isolated from two illegal oil refining sites in the Niger Delta, Nigeria. **Scientific African**, v. 1, p. e00003, 2018.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 454, de 1 de novembro de 2012. Publicada no Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n.216, 08 nov. 2012.

CONCEIÇÃO, L. S. Eficiência de consórcio microbiano degradador de alceno durante a biorremediação de sedimento de manguezal com petróleo. 2021.

COUTINHO, D. A., GUERREIRO, L. T. A., JUNIOR, W. B. C., DE SANTANA, M. S., PEREIRA, V., PIMENTA, G., ... & LUTTERBACH, T. ESTUDO Comparativo entre as Técnicas do Número Mais Provável e PCR em Tempo Real para Quantificação de BRS (Bactérias Redutoras de Sulfato) em Amostras no Setor de Óleo e Gás. In: **5th International Corrosion Meeting- INTERCORR, Fortaleza**. 2014.

CRUZ, J. M. Avaliação ecotoxicológica da biodegradação utilizando inóculo enriquecido com *Bacillus subtilis* em solo contaminado com petróleo, diesel e biodiesel. 2013.

CRUZ, J. M., TAMADA, I. S., LOPES, P. R. M., MONTAGNOLLI, R. N., & BIDOIA, E. D. Biodegradation and phytotoxicity of biodiesel, diesel, and petroleum in soil. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, p. 1-9, 2014.

CRUZ, J. M., CORROQUÉ, N. A., MONTAGNOLI, R. N., LOPES, P. R. M., MORALES, M. A. M., & BIDOIA, E. D. Comparative study of phytotoxicity and genotoxicity of soil contaminated with biodiesel, diesel fuel and petroleum. **Ecotoxicology**, v. 28, p. 449-456, 2019.

CURIEL-ALEGRE, S. et al. Evaluation of biostimulation, bioaugmentation, and organic amendments application on the bioremediation of recalcitrant hydrocarbons of soil. **Chemosphere**, v. 307, p. 135638, 2022.

DACCÒ, C. et al. Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 147, p. 104866, 2020.

DAI, X., LV, J., WEI, W., & GUO, S. Bioremediation of heavy oil contaminated intertidal zones by immobilized bacterial consortium. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 158, p. 70-78, 2022.

DAS, N.; CHANDRAN, P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. **Biotechnology research international**, v. 2011, 2011.

DAVE, D. A. E. G. et al. Remediation technologies for marine oil spills: A critical review and comparative analysis. **American Journal of Environmental Sciences**, v. 7, n. 5, p. 423, 2011.

DEHNAVI, S. M.; EBRAHIMIPOUR, G. Comparative remediation rate of biostimulation, bioaugmentation, and phytoremediation in hydrocarbon contaminants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, n. 11, p. 11561-11586, 2022.

DELL'ANNO, F. et al. Bacteria, fungi and microalgae for the bioremediation of marine sediments contaminated by petroleum hydrocarbons in the omics era. **Microorganisms**, v. 9, n. 8, p. 1695, 2021.

DENG, Y. et al. Innovative microbial activators for enhanced bioremediation of oil-contaminated soils: mechanistic insights. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 2, p. 47, 2025.

DENIC-ROBERTS, H. et al. Acute and longer-term cardiovascular conditions in the deepwater horizon oil spill coast guard cohort. **Environment international**, v. 158, p. 106937, 2022.

DHAKA, A.; CHATTOPADHYAY, P. A review on physical remediation techniques for treatment of marine oil spills. **Journal of Environmental Management**, v. 288, p. 112428, 2021.

DISNER, G. R.; TORRES, M. The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: Overview. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, 2020.

EFFENDI, A. J.; KARDENA, E.; HELMY, Q. Biosurfactant-enhanced petroleum oil bioremediation. In: Microbial action on hydrocarbons. Singapore: **Springer Singapore**, p. 143-179. 2019.

EFFENDI, A. J., SUHARDI, S. H., WIDI, Y. C. K. A. S., HASAN, K., AWFA, D., & SAPUTRA, R. Optimization of Enzymatic Bioremediation of Oil Contaminated Soil by Laccase from *Marasmiellus palmivorus* using Response Surface Methodology. **Jurnal Presipitasi: Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan**, v. 18, n. 3, p. 453-463, 2021.

ENEH, O. C. A review on petroleum: Source, uses, processing, products and the environment. **Journal of Applied Sciences**, v. 11, n. 12, p. 2084-2091, 2011.

FALLAHI, M.; SAREMPOUR, M.; MIRZADI, A. G. Potential biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and petroleum hydrocarbons by indigenous fungi recovered from crude oil-contaminated soil in Iran. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 22153, 2023.

FARAH, M. A. **O Petróleo e seus Derivados**. Rio de Janeiro: LTC, 2012. *E-book*. p.1. ISBN 978-85-216-2151-5. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/978-85-216-2151-5/>. Acesso em: 08 mai. 2025.

FENG, L., WANG, W., CHENG, J., REN, Y., ZHAO, G., GAO, C., TANG, Y., LIU, X., HAN, W., PENG, X. AND LIU, R. Genome and proteome of long-chain alkane degrading *Geobacillus thermodenitrificans* NG80-2 isolated from a deep-subsurface oil reservoir. **Proceedings of the national academy of sciences**, 104(13), pp.5602-5607, 2007.

FENG et al. Distribution and risk assessment of nutrients and heavy metals from sediments in the world-class water transfer projects. **Environmental Sciences Europe**, v. 36, n. 1, p. 140, 2024.

FENIBO, E. O., SELVARAJAN, R., ABIA, A. L. K., & MATAMBO, T. Medium-chain alkane biodegradation and its link to some unifying attributes of *alkB* genes diversity. **Science of The Total Environment**, v. 877, p. 162951, 2023.

FOSTER, J. W. Low pH adaptation and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *Critical reviews in microbiology*, v. 21, n. 4, p. 215-237, 1995.

FRANCO, G.H.; BURBANO, N.M.; FRANK, C.M.; ALCÍVAR, L.M. Research in Petroleum and Environment: A Bibliometric Analysis in South America. **International Journal of Sustainable Development & Planning**, v. 16, n. 6, 2021.

GALLOWAY-PEÑA, J.; HANSON, B. Tools for analysis of the microbiome. **Digestive diseases and sciences**, v. 65, n. 3, p. 674-685, 2020

GAMBINO, E., CHANDRASEKHAR, K., & NASTRO, R. A. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): current practices and outlook. **Microbial metabolism of xenobiotic compounds**, p. 189-216, 2019.

GAO, W. et al. Degradation potential and diversity of oil-degrading bacteria isolated from the sediments of the Jiaozhou Bay, China. **Acta Oceanologica Sinica**, v. 38, n. 6, p. 54-64, 2019.

GARDES, M.; BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular Ecology**, v. 2, n. 2, p. 113-118, abr. 1993.

GARG, S. K.; TRIPATHI, M.; SRINATH, T. Strategies for chromium bioremediation of tannery effluent. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 217**, p. 75-140, 2012.

GHOSH, S.; QURESHI, A.; PUROHIT, H. J. Enhanced expression of catechol 1, 2 dioxygenase gene in biofilm forming *Pseudomonas mendocina* EGD-AQ5 under increasing benzoate stress. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 118, p. 57-65, 2017.

GIOVANELLA, P. et al. Effect of biostimulation and bioaugmentation on hydrocarbon degradation and detoxification of diesel-contaminated soil: a microcosm study. **Journal of Microbiology**, v. 59, p. 634-643, 2021.

GIOVANELLA, P. et al. A comprehensive study on diesel oil bioremediation under microcosm conditions using a combined microbiological, enzymatic, mass spectrometry, and metabarcoding approach. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 45, p. 101250-101266, 2023.

GONÇALVES, D. P. Principais desastres ambientais no Brasil e no mundo. *Jornal da Unicamp*, 2017. Available from: <<https://www.unicamp.br/unicamp/ju/noticias/2017/12/01/principais-desastres-ambientais-no-brasil-e-no-mundo>>.

GOVINDARAJAN, S. K.; MISHRA, A.; KUMAR, A. Oil spill in a marine environment: Requirements following an offshore oil spill. **Rudarsko-geološko-naftni zbornik**, v. 36, n. 4, 2021.

GUIRADO, M., GARCÍA-DELGADO, C., PINDADO, O., DE LA TORRE, B. O., ESCOLANO, O., EYMAR, E., & MILLÁN, R. Bioremediation study of a hydrocarbon-contaminated soil by profiling aromatic and aliphatic chains. **Applied Soil Ecology**, v. 190, p. 104983, 2023.

HADIBARATA, T.; TACHIBANA, S.; ITOH, K. Biodegradation of chrysene, an aromatic hydrocarbon by *Polyporus* sp. S133 in liquid medium. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, n. 2-3, p. 911-917, 2009.

HAMAMURA, N. et al. Microbial population dynamics associated with crude-oil biodegradation in diverse soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 9, p. 6316-6324, 2006.

HARITASH, A. K.; KAUSHIK, C. P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. **Journal of hazardous materials**, v. 169, n. 1-3, p. 1-15, 2009.

HERNÁNDEZ, I. A., ALONSO-AZCÁRATE, J., FERNÁNDEZ-MORALES, F. J., RODRÍGUEZ, L., & VILLASEÑOR CAMACHO, J. Intensified Bioaugmentation as a Strategy to Enhance Bioleaching of Mine Tailings with High Metal Content. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 236, n. 1, p. 1-16, 2025.

HIGASHIHARA, T., SATO, A., and SIMIDU, U. An MPN method for the enumeration of marine hydrocarbon degrading bacteria. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 44, n. 10, p. 1127-1134, 1978.

HOSSAIN et al. A Review of Potentially Toxic Elements in Sediment, Water, and Aquatic Species from the River Ecosystems. **Toxics**, v. 13, n. 1, p. 26, 2024.

HSU, Chou-Yi et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposure during pregnancy and changes in umbilical renal function. **Environmental Sciences Europe**, v. 36, n. 1, p. 90, 2024.

HU, Xin et al. Metal concentration in freshwater sediments is linked to microbial biodiversity and community composition. **Environment International**, v. 199, p. 109465, 2025.

HUARTE-BONNET, Carla et al. Insights into hydrocarbon assimilation by eurotialean and hypocrealean fungi: roles for *CYP52* and *CYP53* clans of *cytochrome P450* genes. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 184, n. 3, p. 1047-1060, 2018.

IBRAHIM, U. B.; MUHAMMAD, K.; NATA'ALA, A. S. Bacterial Alkane Hydroxylase; Diversity, Distribution and Influence in Degradation of Hydrocarbons. **Recent Advances in Molecular Biology and Biochemistry**, p. 57, 2023.

IHRMARK, K. et al. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 82, n. 3, p. 666–677, 27 jul. 2012.

IQBAL, A., MUKHERJEE, M., RASHID, J., KHAN, S. A., ALI, M. A., & ARSHAD, M. Development of plant-microbe phytoremediation system for petroleum hydrocarbon degradation: an insight from *alkB* gene expression and phytotoxicity analysis. **Science of the total environment**, v. 671, p. 696-704, 2019.

ITOPF, 2024. Oil Tanker Spill Statistics in 2024. Disponível em: <<https://www.itopf.org/knowledge-resources/data-statistics/oil-tanker-spill-statistics-2024/>> Acesso em: 25 de abril de 2025.

ITURBE-ESPINOZA, P. et al. Microbial communities associated with landfarming amendments during bioremediation of crude oil in Niger Delta soils. **Applied Soil Ecology**, v. 191, p. 105058, 2023.

JACQUES, R. J. S., BENTO, F. M., ANTONIOLLI, Z. I., & CAMARGO, F. A. D. O.Biorremediação de solos contaminados com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. **Ciência Rural**, v. 37, p. 1192-1201, 2007.

JI, Y., MAO, G., WANG, Y., & BARTLAM, M. Structural insights into diversity and n-alkane biodegradation mechanisms of alkane hydroxylases. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 58, 2013.

JIA, W. et al. Response of the soil microbial community to petroleum hydrocarbon stress shows a threshold effect: research on aged realistic contaminated fields. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1188229, 2023.

JIMÉNEZ-VOLKERINK, S. N. et al. Bacterial benz (a) anthracene catabolic networks in contaminated soils and their modulation by other co-occurring HMW-PAHs. **Environmental Pollution**, v. 328, p. 121624, 2023.

KARAMALIDIS, A. K. et al. Laboratory scale bioremediation of petroleum-contaminated soil by indigenous microorganisms and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet. **Bioresource technology**, v. 101, n. 16, p. 6545-6552, 2010.

KARTHIKEYAN, S. et al. A novel, divergent alkane monooxygenase (*alkB*) clade involved in crude oil biodegradation. **Environmental Microbiology Reports**, v. 13, n. 6, p. 830-840, 2021.

KEBEDE, G. et al. Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts. **Journal of Chemistry**, v. 2021, n. 1, p. 9823362, 2021.

KERAMEA, P. et al. Oil spill modeling: A critical review on current trends, perspectives, and challenges. **Journal of marine science and engineering**, v. 9, n. 2, p. 181, 2021.

KERS, J. G.; SACCENTI, E. The power of microbiome studies: some considerations on which alpha and beta metrics to use and how to report results. **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 796025, 2022.

KIM, T. et al. Best available technique for the recovery of marine benthic communities in a gravel shore after the oil spill: A mesocosm-based sediment triad assessment. **Journal of hazardous materials**, v. 435, p. 128945, 2022.

KLINDWORTH, A., PRUESSE, E., SCHWEER, T., PEPLIES, J., QUAST, C., HORN, M., & GLÖCKNER, F. O. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, 2013.

KOCHHAR, N., SHRIVASTAVA, S., GHOSH, A., RAWAT, V. S., SODHI, K. K., & KUMAR, M. Perspectives on the microorganism of extreme environments and their applications. **Current research in microbial sciences**, v. 3, p. 100134, 2022.

KWAJI, M. J. et al. Bioremediation of Hydrocarbons from Kaduna Refining and Petrochemical Company Effluents Using *Cladosporium*. **Appli Microbiol Open Access**, v. 6, n. 167, p. 2, 2020.

LACERDA, A. L. D. F. et al. Diverse groups of fungi are associated with plastics in the surface waters of the Western South Atlantic and the Antarctic Peninsula. **Molecular Ecology**, v.29, n. 10, p. 1903–1918, 2020.

LAMBERT, M. et al. Metabolism of pyrene by the basidiomycete *Crinipellis stipitaria* and identification of pyrenequinones and their hydroxylated precursors in strain JK375. **Applied and environmental microbiology**, v. 60, n. 10, p. 3597-3601, 1994.

LEAL, P. L. Atividade e dinâmica populacional de um consórcio bacteriano durante biodegradação de óleo diesel no solo. 2009.

ŁEBKOWSKA, M. et al. Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms: Field-scale processes in Poland. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 11, p. 1895–1900, nov. 2011.

LESSA, G. C. et al. The 2019 Brazilian oil spill: insights on the physics behind the drift. **Journal of Marine Systems**, v. 222, p. 103586, 2021.

LI, Q. et al. Effects of co-contamination of heavy metals and total petroleum hydrocarbons on soil bacterial community and function network reconstitution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 204, p. 111083, 2020.

LI, X., WU, S., DONG, Y., FAN, H., BAI, Z., & ZHUANG, X. Engineering microbial consortia towards bioremediation. **Water**, v. 13, n. 20, p. 2928, 2021.

LIPÍŃSKA, A.; KUCHARSKI, J. WYSZKOWSKA, J. The effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on the structure of organotrophic bacteria and dehydrogenase activity in soil. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 34, n. 1, p. 35-53, 2014.

LIU, X.; SALLES, J. F. Lose-lose consequences of bacterial community-driven invasions in soil. **Microbiome**, v. 12, n. 1, p. 57, 2024.

LIU, H.; JIANG, Y. Petroleum geology. **Springer Nature**, 2025.

LYU, L. et al. Degradation potential of alkanes by diverse oil-degrading bacteria from deep-sea sediments of Haima cold seep areas, South China Sea. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 920067, 2022

MA, X.-K.; DING, N.; PETERSON, E. C. Bioaugmentation of soil contaminated with high-level crude oil through inoculation with mixed cultures including *Acremonium* sp. **Biodegradation**, v. 26, n. 3, p. 259–269, 1 jun. 2015.

MAEDA, A. H. et al. Biotransformation of the high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) benzo [k] fluoranthene by *S phingobium* sp. strain KK 22 and identification of new products of non-alternant PAH biodegradation by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Microbial biotechnology**, v. 7, n. 2, p. 114-129, 2014.

MAHMUD, T. et al. Hydrocarbon degradation potentials of fungi: A review. **Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology**, v. 5, n. 1, p. 50-56, 2022.

MAJEED, B. K.; SHWAN, D. M.S.; RASHID, K. A. A review on environmental contamination of petroleum hydrocarbons, its effects and remediation approaches. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 27, n. 3, p. 526-548, 2025.

MALLAH, M. A., CHANGXING, L., MALLAH, M. A., NOREEN, S., LIU, Y., SAEED, M., ZHANG, Q. Polycyclic aromatic hydrocarbon and its effects on human health: An overview. **Chemosphere**, v. 296, p. 133948, 2022.

MARGESIN, R.; ZIMMERBAUER, A.; SCHINNER, F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. **Chemosphere**, v. 40, n. 4, p. 339-346, 2000.

MARTINS, S. S. D. S., Silva, M. P., Azevedo, M. O., & SILVA, V. P. Produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações. **Holos**, v. 6, p. 54-76, 2015.

MARTIROSYAN, V. et al. Bacterial Community Dynamics in Oil-Contaminated Soils in the Hyper-Arid Arava Valley. **Agronomy**, v. 15, n. 5, p. 1198, 2025.

MAWAD, A. M. M.; ABDEL-MAGEED, W. S.; HESHAM, A. E. Quantification of naphthalene dioxygenase (*NahAC*) and catechol dioxygenase (*C23O*) catabolic genes produced by phenanthrene-degrading *Pseudomonas fluorescens* AH-40. **Current Genomics**, v. 21, n. 2, p. 111-118, 2020.

MEDIĆ, A. B.; KARADŽIĆ, I. M. *Pseudomonas* in environmental bioremediation of hydrocarbons and phenolic compounds-key catabolic degradation enzymes and new analytical platforms for comprehensive investigation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 10, p. 165, 2022.

MELO, A. P. Z. de et al. Disasters with oil spills in the oceans: Impacts on food safety and analytical control methods. **Food Research International**, v. 157, p. 111366, 2022.

MILANI, E. J., BRANDÃO, J. A. S. L., ZALÁN, P. V., & GAMBOA, L. A. P. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 18, p. 352-396, 2000.

MISHRA, M.; SINGH, S. K.; KUMAR, A. Environmental factors affecting the bioremediation potential of microbes. In: Microbe mediated remediation of environmental contaminants. **Woodhead Publishing**, 2021. p. 47-58.

MOHAMMED, S. A.; OMAR ZRARY, T. J.; HASAN, A. H. Degradation of crude oil and the pure hydrocarbon fractions by indigenous soil microorganisms. **Biologia**, v. 78, n. 12, p. 3637-3651, 2023.

MOHAMMADI, M. et al. Microbial community response to biostimulation and bioaugmentation in crude oil-polluted sediments of the Persian Gulf. **Environmental Research**, v. 249, p. 118197, 2024.

MOU, B.; GONG, G.; WU, S. Biodegradation mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons: Combination of instrumental analysis and theoretical calculation. **Chemosphere**, v. 341, p. 140017, 2023.

MUTHUKUMAR, B. et al. Influence of bioaugmentation in crude oil contaminated soil by *Pseudomonas* species on the removal of total petroleum hydrocarbon. **Chemosphere**, v. 310, p. 136826, 2023.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). Information about the taxonomy ID 297713. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=297713>>. Acessado em: 4 jan. 2026.

NORONHA, I. R. de; FERREIRA, M. I. P.; PINTO, A. E. M. Riscos e danos ambientais associados às atividades da cadeia produtiva do petróleo: instrumentos de comando e controle para mitigação dos impactos de vazamentos de óleo. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 7, n. 1, p. 596-613, 2018.

OKEYODE, A. H. et al. Degradation of the highly complex polycyclic aromatic hydrocarbon coronene by the halophilic bacterial strain *Halomonas caseinilytica*, 10SCRN4D. **Archives of Environmental Protection**, p. 78-86-78-86, 2023

PANDOLFO, E.; CARACCILO, A. B.; ROLANDO, L. Recent advances in bacterial degradation of hydrocarbons. **Water**, v. 15, n. 2, p. 375, 2023.

- PAPIN, M. et al. Survival of a microbial inoculant in soil after recurrent inoculations. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 4177, 2024.
- PATEL, A. K.; SINGHANIA, R. R.; ALBARICO, F. P. J. B.; PANDEY, A.; CHEN, C. W.; DONG, C. D. Organic wastes bioremediation and its changing prospects. **Science of the Total Environment**, v. 824, p. 153889, 2022.
- PEDUTO, T. A. G., JESUS, T. D., & KOHATSU, M. Y. Sensibilidade de diferentes sementes em ensaio de fitotoxicidade. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, v. 4, n. 2, p. 200-212, 2019.
- PENA, P. G. L., NORTHCROSS, A. L., LIMA, M. A. G. D., & RÊGO, R. D. C. F. Derramamento de óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. **Cadernos de saúde pública**, v. 36, p. e00231019, 2020.
- PENG, J. J., CAI, C., QIAO, M., LI, H., & ZHU, Y. G. Dynamic changes in functional gene copy numbers and microbial communities during degradation of pyrene in soils. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 9, p. 2872-2879, 2010.
- PERERA, M., WIJESUNDERA, S., WIJAYARATHNA, C. D., SENEVIRATNE, G., & JAYASENA, S. Identification of long-chain alkane-degrading (*LadA*) monooxygenases in *Aspergillus flavus* via in silico analysis. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 898456, 2022.
- PINHEIRO, Y. A. S. et al. Deterministic development of soil microbial communities in disturbed soils depends on microbial biomass of the bioinoculum. **Microbial Ecology**, v. 86, n. 4, p. 2882-2893, 2023.
- POORSOLEIMAN, M. S., HOSSEINI, S. A., ETMINAN, A., ABTAHI, H., & KOOLIVAND, A. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons by using a two-step inoculation composting process scaled-up from a mineral-based medium: Effect of biostimulation of an indigenous bacterial strain. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, p. 2089-2096, 2021.
- PORTAL EBC. Desastres ambientais no Brasil. Portal EBC. Disponível em: <<http://www.ebc.com.br/noticias/meio-ambiente/2015/11/conheca-os-principais-desastres-ambientais-ocorridos-no-brasil>>
- RIZZO, C.; PAPALE, M.; LO GIUDICE, A. *Idiomarina* sp. isolates from cold and temperate environments as biosurfactant producers. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 10, n. 8, p. 1135, 2022.
- RODRIGUEZ-RODRIGUEZ CE, LUCAS D, BARON E, GAGO-FERRERO P, MOLINS-DELGADO D, RODRIGUEZ-MOZAZ S, ELJARRAT E, SILVIA DIAZ-CRUZ M, BARCELO D, CAMINAL G, VICENT T. Re-inoculation strategies enhance the degradation of emerging pollutants in fungal bioaugmentation of sewage sludge. **Bioresource technology**, v. 168, p. 180-189, 2014.
- RODRÍGUEZ, A., ZÁRATE, S. G., & BASTIDA, A. Identification of new dioxygenases able to recognize polycyclic aromatic hydrocarbons with high aromaticity. **Catalysts**, v. 12, n. 3, p. 279, 2022.

ROY, A. S. et al. Bioremediation potential of native hydrocarbon degrading bacterial strains in crude oil contaminated soil under microcosm study. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 94, p. 79-89, 2014.

SAKSHI; SINGH, S. K.; HARITASH, A. K. Bacterial degradation of mixed-PAHs and expression of PAH-catabolic genes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 2, p. 47, 2023.

SALAM, L. B.; OBAYORI, O. S.; OLATOYE, N. O. Biodegradation of anthracene by a novel actinomycete, *Microbacterium* sp. isolated from tropical hydrocarbon-contaminated soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 335-341, 2014.

SANTOS, G. P. dos. Seleção de microrganismos de origem marinha para obtenção de consórcio degradador de petróleo, 2024.

SAYED, K.; BALOO, L.; SHARMA, N. K. Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 5, p. 2226, 2021.

SEATON, F. M. et al. Soil bacterial and fungal communities show within field heterogeneity that varies by land management and distance metric. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 177, p. 108920, 2023.

SÉRVULO, T. et al. Plasticsphere composition in a subtropical estuary: Influence of season, incubation time and polymer type on plastic biofouling. **Environmental pollution**, v. 332, p. 121873–121873, 1 set. 2023.

SHADE, A. et al. Conditionally rare taxa disproportionately contribute to temporal changes in microbial diversity. **MBio**, v. 5, n. 4, p. 10.1128/mbio. 01371-14, 2014.

SHARMA, K. V.; SARVALINGAM, B. K.; MARIGOUDAR, S. R. A review of mesocosm experiments on heavy metals in marine environment and related issues of emerging concerns. **Environmental science and pollution research**, v. 28, n. 2, p. 1304-1316, 2021.

SHARPLES A. Palm diseases in Malaya. **Malay Agric J.** 16(9–10):313–360, 1928.

SHEBL, Sara et al. Aerobic phenol degradation using native bacterial consortium via ortho- and meta-cleavage pathways. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1400033, 2024

SHIOMI, N., ZAMBARE, V., DIN, M. F. M., & SUMMERS, J. K. **Bioremediation for global environmental conservation**. BoD–Books on Demand, 2023.

SILVA, M. et al. Screening filamentous fungi isolated from estuarine sediments for the ability to oxidize polycyclic aromatic hydrocarbons. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 4, p. 399-405, 2003.

SILVA, D. C. P., DOS SANTOS, C. M., DE OLIVEIRA, A. B., DOS SANTOS, N. M. M., & PINTO, L. C. Derramamento de óleo no mar e implicações tóxicas da exposição aos compostos químicos do petróleo: oil spill in the sea and toxic implications of exposure to petroleum chemical. **Revista Contexto & Saúde**, v. 21, n. 44, p. 332-344, 2021.

SOMBIRI, S. et al. An overview on occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in food chain with special emphasis on human health ailments. **Discover Environment**, v. 2, n. 1, p. 87, 2024

SONG, J. et al. Analysis of Microbial Community Heterogeneity and Carbon Fixation Capabilities in Oil-Contaminated Soils in Chinese Onshore Oilfields. **Microorganisms**, v. 12, n. 11, p. 2379, 2024.

STELIGA, T.; JAKUBOWICZ, P.; KAPUSTA, P. Changes in toxicity during in situ bioremediation of weathered drill wastes contaminated with petroleum hydrocarbons. **Bioresource Technology**, v. 125, p. 1-10, 2012.

STEPANOVA, A. Y. et al. Bioremediation of soil from petroleum contamination. **Processes**, v. 10, n. 6, p. 1224, 2022.

STEWART, R. I. A. et al. Mesocosm experiments as a tool for ecological climate-change research. **Advances in ecological research**, v. 48, p. 71-181, 2013.

SUN, Y., CHEN, W., WANG, Y., GUO, J., ZHANG, H., & HU, X. Nutrient depletion is the main limiting factor in the crude oil bioaugmentation process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 100, p. 317-327, 2021.

TAHHAN, R. A. et al. Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a modified bioaugmentation strategy. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 1, p. 130–134, jan. 2011.

TAKESHITA, R. et al. A review of the toxicology of oil in vertebrates: what we have learned following the Deepwater Horizon oil spill. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 24, n. 8, p. 355-394, 2021.

TAWFEEQ, H. R.; AL-JUBORI, S. S.; MUSSA, A. H. Purification and characterization of catechol 1, 2-dioxygenase (EC 1.13. 11.1; catechol-oxygen 1, 2-oxidoreductase; C12O) using the local isolate of phenol-degrading *Pseudomonas putida*. **Folia Microbiologica**, v. 69, n. 3, p. 579-593, 2024.

TEIXEIRA, L. M., QUIRINO, A. G. C., AGUIAR, H. L. S., & ROCHA, E. M. R. Evaluation of the acute phytotoxicity of phototreated textile effluent using cucumber (*Cucumis sativus*) and radish seeds (*Raphanus sativus*). **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 59, p. e1861-e1861, 2024.

TENG, T. et al. Distinct bacterial community structure, assembly and functions between aged and multiple petroleum-contaminated sites. **Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, 2025.

TERSAGH, I.; EBAH, E.; AZUA, E. Fluoranthene and benzo(k)fluoranthene by aerobic heterotrophic bacteria-cyanobacteria interaction in brackish water of Bodo creek. **J Pet Environ Biotechnol**, v. 7, n. 292, p. 2, 2016.

THOMAS, J. E. Fundamentos de engenharia do petróleo. [s.l.] Interciência: PETROBRAS, 2001.

TOMAR, R. S.; RAI-KALAL, P.; JAJOO, A. Impact of polycyclic aromatic hydrocarbons on photosynthetic and biochemical functions and its bioremediation by *Chlorella vulgaris*. **Algal Research**, v. 67, p. 102815, 2022.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Microbiological Methods & Bacteriological Analytical Manual (BAM). U.S. Department of Health and Human Services, 2001.

VALE, C. G. et al. Understanding the local drivers of beta-diversity patterns under climate change: The case of seaweed communities in Galicia, North West of the Iberian Peninsula. **Diversity and Distributions**, v. 27, n. 9, p. 1696-1705, 2021.

VARJANI, S.; UPASANI, V. N.; PANDEY, A. Bioremediation of oily sludge polluted soil employing a novel strain of *Pseudomonas aeruginosa* and phytotoxicity of petroleum hydrocarbons for seed germination. **Science of the Total Environment**, v. 737, p. 139766, 2020.

VASSILIOU, M. S. **Historical dictionary of the petroleum industry**. Rowman & Littlefield, 2018.

VASUDEVA, G. et al. Bioremediation of catecholic pollutants with novel oxygen-insensitive catechol 2, 3-dioxygenase and its potential in biomonitoring of catechol in wastewater. **Environmental Pollution**, v. 367, p. 125613, 2025.

VIDELA-JIMÉNEZ, P.; RUZ, F.; LÓPEZ-MARTÍN, M. M. Research on box plot knowledge in statistical education: a systematic review of the literature: P. Videla Jiménez et al. **European Journal of Psychology of Education**, v. 40, n. 4, p. 141, 2025.

VILLALBA, A. Z. et al. Evaluation of marine microbiota with bioremediation potential for hydrocarbons. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 41, p. 775-787, 2025.

WANG, Z. et al. Succession of the resident soil microbial community in response to periodic inoculations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 9, p. e00046-21, 2021.

WANG, M.; DOWLING, D. N.; GERMAINE, K. J. Bioremediation of Diesel-Contaminated Soil: Hydrocarbon Degradation and Soil Toxicity Reduction by Constructed Bacterial Consortia. **Applied Sciences**, v. 15, n. 18, p. 10143, 2025.

WANG, Q. et al. Dynamic responses in bioaugmentation of petroleum-contaminated soils using thermophilic degrading consortium HT: Hydrocarbons, microbial communities, and functional genes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 487, p. 137222, 2025.

WARTELL, B.; BOUFADEL, M.; RODRIGUEZ-FREIRE, L. An effort to understand and improve the anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons: A literature review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 157, p. 105156, 2021

WHITE T.J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A guide to Methods and Applications (INNIS M.A. GELFLAND D.H.; SNINSKY J.J. WHITE T.J, eds), pp 315-322. **Academic Press**, San Diego, CA. 1990.

WIECZOREK, D.; MARCHUT-MIKOLAJCZYK, O.; ANTCZAK, T. Changes in microbial dehydrogenase activity and pH during bioremediation of fuel contaminated soil. **BioTechnologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology**, v. 96, n. 4, 2015.

WRENN, B. A.; VENOSA, A. D. Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable-number procedure. **Canadian journal of microbiology**, v. 42, n. 3, p. 252-258, 1996.

WU, M. *et al.* Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil. **Chemosphere**, v. 237, p. 124456, 2019.

WYSZKOWSKA, J. *et al.* The potential for restoring the activity of oxidoreductases and hydrolases in soil contaminated with petroleum products using perlite and dolomite. **Applied Sciences**, v. 14, n. 9, p. 3591, 2024.

XIA, Y.; SUN, J. Alpha diversity. In: Bioinformatic and statistical analysis of microbiome data: from raw sequences to advanced modeling with QIIME 2 and R. Cham: **Springer International Publishing**, 2023. p. 289-333.

XU, X., LIU, W., TIAN, S., WANG, W., QI, Q., JIANG, P., ... & YU, H. Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 3 dez. 2018.

YAMAN, C. Performance and kinetics of bioaugmentation, biostimulation, and natural attenuation processes for bioremediation of crude oil-contaminated soils. **Processes**, v. 8, n. 8, p. 883, 2020.

YAP, H. S. *et al.* Bibliometric analysis of hydrocarbon bioremediation in cold regions and a review on enhanced soil bioremediation. **Biology**, v. 10, n. 5, p. 354, 2021.

YU, G. *et al.* Nested PCR biases in interpreting microbial community structure in 16S rRNA gene sequence datasets. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0132253, 2015.

ZACHARIAS, D. C.; FORNARO, A. Brazilian offshore oil exploration areas: an overview of hydrocarbon pollution. **Revista Ambiente & Água**, v. 15, n. 5, p. e2569, 2020.

ZACHARIAS, D. C. *et al.* Offshore oil spills in Brazil: An extensive review and further development. **Marine Pollution Bulletin**, v. 205, p. 116663, 2024.

ZAJC, J.; GUNDE-CIMERMAN, N. The genus *Wallemia*—from contamination of food to health threat. **Microorganisms**, v. 6, n. 2, p. 46, 2018.

ZENG, J. et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbon structure on PAH mineralization and toxicity to soil microorganisms after oxidative bioremediation by laccase. **Environmental Pollution**, v. 287, p. 117581, 2021.

ZHENG, T. et al. Fire Phoenix plant mediated microbial degradation of pyrene: Increased expression of functional genes and diminishing of degraded products. **Chemical Engineering Journal**, v. 407, p. 126343, 2021.

ZHOU, H. et al. Enhanced bioremediation of diesel oil-contaminated seawater by a biochar-immobilized biosurfactant-producing bacteria *Vibrio* sp. LQ2 isolated from cold seep sediment. **Science of the Total Environment**, v. 793, p. 148529, 2021.

ZHUANG, J. et al. Petroleum pollution changes microbial diversity and network complexity of soil profile in an oil refinery. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1193189, 2023.

ZUZOLO, D. et al. The remediation potential for PAHs of *Verbascum sinuatum* L. combined with an enhanced rhizosphere landscape: A full-scale mesocosm experiment. **Biotechnology Reports**, v. 31, p. e00657, 2021.