UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

SINERGISMO ENTRE CEPAS DE UM CONSÓRCIO BACTERIANO DEGRADADOR DE DIESEL ISOLADO DO RIO NEGRO

JEFFERSON FERREIRA DOS SANTOS

Orientador: Edmar Vaz de Andrade

Co-orientadora: Isabelle Bezerra Cordeiro

MANAUS – AM
2021

JEFFERSON FERREIRA DOS SANTOS

SINERGISMO ENTRE CEPAS DE UM CONSÓRCIO BACTERIANO DEGRADADOR DE DIESEL ISOLADO DO RIO NEGRO

Tese de Doutorado, orientada pelo Prof. Dr. Edmar Vaz de Andrade e Co-orientada pela Profa. Dra. Isabelle Bezerra Cordeiro, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – PPGBiotec, como requisito para obtenção do título de doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

MANAUS – AM
2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Santos, Jefferson Ferreira dos
S237s Sinergismo entre cepas de um consórcio bacteriano degradador de diesel isolado do rio negro / Jefferson Ferreira dos Santos . 2021
197 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Edmar Vaz de Andrade
Coorientadora: Isabelle Bezerra Cordeiro
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Proteômica. 2. Consórcio microbiano. 3. Degradação de diesel. 4. Biorremediação. 5. Xenobiótico. I. Andrade, Edmar Vaz de. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

SUMÁRIO

RESUMO *12*

ABSTRACT *13*

1. INTRODUÇÃO *14*

2. REFERENCIAL TEÓRICO *16*

2.1. ÓLEO DIESEL: CARACTERISTICAS GERAIS **16**

2.1.1. Compostos tóxicos e perigosos no diesel 17

2.1.2. Principais efeitos tóxicos dos hidrocarbonetos do diesel 18

2.2. POLUIÇÃO CAUSADA POR DIESEL **20**

2.2.1. Acidentes com óleo na Amazônia 21

2.3. BIODEGRADAÇÃO DO ÓLEO DIESEL **25**

2.3.1. Biorremediação 26

2.3.2. Biorremediação do diesel por bactérias 27

2.3.3. Uso de consórcios bacterianos na biorremediação do diesel 29

2.3.4. Principais rotas catabólicas para diesel em microrganismos 31

2.4. PROTEÔMICA E BIORREMEDIAÇÃO **34**

3. OBJETIVOS *37*

3.1. GERAL **37**

3.2. ESPECÍFICOS **37**

4. METODOLOGIA *38*

4.1. COLETA E ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS CONSÓRCIOS BACTERIANOS **38**

4.1.1. Coleta 38

4.1.2. Isolamento de colônias bacterianas 40

4.1.3. Coloração de Gram e Cápsula 40

4.2. ANÁLISE DE BIODEGRADAÇÃO DO DIESEL **40**

4.2.1. Condições de cultivo bacteriano 40

4.2.2. Seleção de consórcios com DCPIP 41

4.2.3. Curva de redução do DCPIP 41

4.2.4. Teste da atividade emulsificante 43

4.2.5. Teste de Hidrofobicidade Celular 43

4.2.6. Determinação da biodegradação do óleo diesel por gravimetria 44

4.3. TOXICIDADE DO SOBRENADANTE DE CULTURA **44**

4.3.1. Toxicidade em *Artemia salina* **44**

4.3.2. Toxicidade em *Lactuca sativa* **45**

4.4. ANÁLISE PROTEÔMICA **45**

4.4.1. Obtenção das proteínas intracelulares **45**

4.4.2. Obtenção de proteínas extracelulares 46

4.4.3. Eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) 46

4.4.4. Preparo de amostras para digestão tríptica 47

4.4.5. Digestão tríptica 47

4.4.6. Espectrometria de massas .....

4.4.7. Buscas em bancos de dados de proteína 48

4.4.8. Critérios para identificação de proteínas **49**

4.4.9. Construção dos mapas metabólicos **49**

4.4.10. Análise da abundância de proteínas associadas a biorremediação **50**

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA 51

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 52

5.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS CONSÓRCIOS BACTERIANOS 52

5.2. ANÁLISE DE BIODEGRADAÇÃO DO DIESEL 53

5.2.1. Seleção de consórcios e curva de redução de DCPIP 53

5.2.2. Teste da atividade emulsificante 57

5.2.3. Teste de hidrofobicidade celular 60

5.2.4. Biodegradação do óleo diesel pelos consórcios 62

5.3. TOXICIDADE DO SOBRENADANTE DE CULTURA 65

5.3.1. Toxicidade em *Artemia salina* 65

5.3.2. Toxicidade em *Lactuca sativa* 68

5.4. CONSÓRCIO A3 COMO O MAIS PROMISSOR PARA A BIORREMEDIAÇÃO 72

5.5. ANÁLISE PROTEÔMICA DO CONSÓRCIO A3 73

5.5.1. Definição dos gêneros e espécies do consórcio por espectrometria de massa 73

5.5.2. Proteínas identificadas 76

5.6. DEGRADAÇÃO DE XENOBIÓTICOS PELO CONSÓRCIO A3 83

5.6.1. Degradação de hidrocarbonetos aromáticos monocíclicos 83

5.6.1.1. Degradação de BTEX pelo consórcio A3 84

5.6.1.2. Degradação de outros compostos monoaromáticos pelo consórcio A3 93

5.6.2. Degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos 98

5.6.3. Degradação de hidrocarbonetos alifáticos 99

5.7. MODELO DE DEGRADAÇÃO DE XENOBIÓTICOS PARA O CONSÓRCIO A3 103

5.8. MAPAS METABÓLICOS DAS ESPÉCIES DO CONSÓRCIO A3 109

5.9. ABUNDÂNCIA DAS PROTEÍNAS ASSOCIADAS A BIORREMEDIAÇÃO 114

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS 120

7. REFERÊNCIAS 121

8. APÊNDICES 143

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Fluxograma dos experimentos.

Figura 02. Área de coleta dos consórcios bacterianos. Porto do Ceasa, Rio Negro, Manaus-AM. Consórcios A1, A2, A3 e A4 coletados em 31 de agosto de 2018 (após derramamento de óleo na região). Consórcio A5 coletado em 15 de novembro de 2015.

Figura 03: Seleção de consórcios com indicador redox DCPIP. A – Ensaio em escala piloto (0h); **B** – Ensaio em escala piloto (48h). **C** - Curva de redução de DCPIP. C1 – Controle 1 (BH + DCPIP); C2 – Controle 2 (BH + DCPIP + Diesel); C3 – Controle 3 (BH + DCPIP + Pré-Inóculo). A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios cultivados em BH + Diesel + DCPIP.

Figura 04: **Emulsão formada pelo consórcio A3.** Sobrenadante de cultura e solvente orgânico (xileno e hexano) ou diesel (1:1) vortexado por 120 s, deixado em repouso por 24 h em temperatura ambiente.

Figura 05: Comparação do tamanho do das plântulas de *L. sativa* tratadas com sobrenadantes de cultura dos consórcios. Controle (+) - Controle positivo com água destilada; Diesel (1%) – Controle com meio BH + diesel não degradado (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadante dos respectivos consórcios. Condições de cultivo dos consórcios: 150 rpm, 30˚ C, 7 dias.

Figura 06: Representação das quantidades totais de proteínas identificadas em diagrama de Venn. (a) – Proteínas identificadas nas amostras intracelular (A3In) e extracelular (A3Ex). (b) – Proteínas identificadas por espécie (AB – *A. baumannii;* BC – *B. cenocepacia;* CT – *C. taiwanensis* (CT). O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foram "*A. baumannii", "B. cenocepacia" e "C. taiwanensis"* do *Uniprot*. Pesquisado em 20/03/2020.

Figura 07: Anotação funcional das proteínas do consórcio A3 com base no componente celular, função molecular e processo biológico. Informações obtidas no *Gene Ontology* (GO), bancos de dados *Uniprot* e *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG*). Destaques em vermelho indicam função molecular ou processo biológico considerados importantes para esse trabalho. Pesquisado em 20/03/2020.

Figura 08: Vias metabólicas nas quais as proteínas do consórcio A3 podem atuar. Informações obtidas no *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG*). Pesquisado em 20/03/2020. Destaques em laranja representam as vias relacionadas ao metabolismo energético central. Os destaques em vermelho indicam via associadas com a degradação de xenobióticos.

Figura 09: Via de degradação do benzoato (map00362). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas detectadas no consórcio A3, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.

Figura 10: Ampliação de partes da via degradação do benzoato (map00362) - Destaque *Catechol 1,2 dioxygenase* (EC: 1.13.11.1). Modificada a partir do *KEGG*.

Figura 11: Ampliação de partes da via degradação do benzoato (map00362) - destaque *Catechol 2, 3 dioxygenase (EC: 1.13.11.2)*. Modificada a partir do *KEGG*.

Figura 12: Ampliação de partes da via degradação do benzoato (map00362) - destaque quebra anaeróbica. Modificada a partir do *KEGG*.

Figura 13: Esquema das rotas de quebra do benzoato pelo consórcio A3. Verde - enzimas-chave da via (identificadas); Azul – mecanismo de quebra e produto final da via; Amarelo – enzima-chave da via (não identificadas), seguido da reação e produtos finais (em branco).

Figura 14: Via de degradação do tolueno (map00623). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.

Figura 15: Ampliação de partes da via degradação do tolueno (map00623) - destaque formação de benzoato. Modificada a partir do *KEGG*.

Figura 16: Via de degradação do etilbenzeno (map00642). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Figura 17: Via de degradação de *p*-, *o*-, e *m*-xileno (map00622). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.

Figura 18: Ampliação de partes da via degradação do xileno (map00623) - destaque formação de metilbenzoato. Modificada a partir do *KEGG*

Figura 19: Via de degradação de clorociclohexano e clorobenzeno (map00361). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; BC – *B. cenocepacia*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.

Figura 20: Via de degradação de fluorobenzoato (map00364). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; BC – *B. cenocepacia*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.

Figura 21: Via de degradação de aminobenzoato (map00627). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Figura 22: Via de degradação de naftaleno (map00627). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; Caixas de *EC number* na cor verde

indicam enzimas encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Figura 23: Via de degradação ácidos graxos (map00071). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho representa a via de *β*-oxidação dos ácidos graxos. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Figura 24: Via de degradação de Degradação de cloroalcano e cloroalceno (map00625). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia.* Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Figura 25. Relação das proteínas de *A. baumannii, B. cenocepacia e C. taiwanensis* associadas à degradação dos xenobióticos. (1) – Aromáticos; (2) – Ácidos graxos; (3) – Alifáticos e (4) – Outros compostos. Números associados aos compostos xenobióticos representam a quantidade de proteínas identificadas nas vias e degradação.

Figura 26. Mecanismo geral de degradação de compostos aromáticos pelo consórcio A3. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas e amarela enzimas importantes não encontradas. AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. As cores diferentes das setas tracejadas indicam as diferentes rotas de degradação de um determinado xenobiótico.

Figura 27. Mecanismo geral de degradação hidrocarbonetos alifáticos pelo consórcio A3. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas e amarela enzimas importantes não encontradas. AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*

Figura 28. *Heatmap* de abundância das proteínas associadas com a degradação de xenobióticos. Baseado nos *spectral counts* totais observados nos dados de espectrometria de massas. AB-Ex – *spectral counts* de *A. baumannii* amostra extracelular; BC-Ex – *spectral counts* de *B. cenocepacia* amostra extracelular; CT-Ex *spectral counts* de *C. taiwanensis* amostra extracelular; A3-Ex – somatória de todos os *spectral counts* do consórcio A3 amostra extracelular; AB-In – *spectral counts* de *A. baumannii* da amostra intracelular; BC-In – *spectral counts* de *B. cenocepacia* amostra intracelular; CT-In *spectral counts* de *C. taiwanensis* amostra intracelular; A3-In – somatória de todos os *spectral counts* do consórcio A3 amostra intracelular.

LISTA DE MAPAS METABÓLICOS

Mapas A e B – Mapas de vias metabólicas de *A. baumannii* e *B. cenocepacia*. A – 510 proteínas de *A. baumannii*. B – 496 proteínas de *B. cenocepacia*. Códigos dos mapas no KEGG: vias metabólicas (abc01100) e (bmj01100). Em vermelho (A) e roxo (B) vias onde atuam as proteínas identificadas, em verde todas as proteínas anotadas no *KEGG* para a espécie.

Mapas C – Mapas de vias metabólicas de *C. taiwanensis* C – 290 proteínas de *C. taiwanensis*. Códigos dos mapas no KEGG: vias metabólicas (cti01100) Em azul indicam as vias onde atuam as proteínas identificadas, em verde todas as proteínas anotadas no *KEGG* para a espécie.

Mapa D e E – Mapas de sinergismos entres as espécies do consócio A3 nas diferentes vias metabólicas. 890 proteínas do consórcio A3, com seleção automática no KEGG para "metabolismo microbiano em diversos ambientes" (mapa D) e sem restrição por via metabólica (mapa E). Código dos mapas no KEGG: metabolismo microbiano em diversos ambientes (map01120); vias metabólicas (map01100). Vias na cor Vermelha – Proteínas exclusiva de *A. baumannii*; Verde – exclusiva de *B. cenocepacia*; Azul – exclusiva de *C. taiwanensis*; Laranja – Comum a *A. baumannii* e *B. cenocepacia*; Roxo – Comum a *B. cenocepacia* e *C. taiwanensis*; Amarelo – Comum a *A. baumannii* e *C. taiwanensis*; Preto – Proteínas comuns a todas as espécies.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Pontos de coleta dos consórcios bacterianos. A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios coletados.

Tabela 02. Composição dos ensaios para determinação da curva de redução do DCPIP.

Tabela 03. Características morfológicas de colônias isoladas dos consórcios bacterianos

Tabela 04. Concentração média de DCPI reduzido pelos consórcios. A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios cultivados em BH + diesel + DCPIP. C1 – Controle 1 (BH + DCPIP); C2 – Controle 2 (BH + DCPIP + diesel); C3 – Controle 3 (BH + DCPIP + Pré-Inóculo). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Tabela 05. Pontos de coleta dos consórcios bacterianos e seleção com DCPIP. A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios cultivados em BH + Diesel + DCPIP, a 30˚ C, sem agitação, por 48. Descoloração do DCPIP variando de mais intenso (+++) ao menos intenso (+), observado visualmente.

Tabela 06: Índices de emulsificação (E24h). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste Tukey com significância de 0,05. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados; SDS (0,5%) – Controle positivo; BH – Controle negativo.

Tabela 07: Índices de hidrofobicidade celular dos consórcios. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Tabela 08. Biodegradação do óleo diesel pelos consórcios. C – Controle abiótico; A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Tabela 09. Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *A. salina*. CBH – controle com meio BH; CD – Controle com meio BH + diesel (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadantes dos respectivos consórcios. Cultivo a 30˚ C, por 24 h. Diluição em solução salina (2 % NaCl, pH 8,5). O sinal " -" indica que o valor de porcentagem e desvio padrão é igual zero. Valores sombreados indicam DL50 ou intervalo onde ela acontece.

Tabela 10. Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *L. sativa*. CD – Controle com diesel não biodegradado; A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Tabela 11. Comparação entre os consórcios em relação aos melhores resultados dos testes realizados. X – Xileno; H – Hexano; D – Diesel; Biod. – Teste de biodegradação do diesel.

Tabela 12. Proteínas envolvidas na degradação de xenobióticos. # - Sequência em que aparece na lista do apêndice 02; Esp. – Espécie na qual foi identificada; MM kDa – Massa molecular em kDa; Am. – Amostra onde foi identificada.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01: Curva padrão para determinação das concentrações de DCPIP. Concentrações de 0,5, 5 e 25mg.L^{-1} de DCPIP foram usadas. Absorbância medida em espectrofotômetro (λ=600nm).

Gráfico 02: Índices de emulsificação em 24 h. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. SDS (0,5 %) – Controle positivo; BH – Controle negativo. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Gráfico 03: Índices de hidrofobicidade celular. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Gráfico 04: Taxas de biodegradação do óleo diesel pelos consórcios. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Cultivo a 30˚ C, 150rpm, por 7 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Gráfico 05: Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *A. salina*. CBH – Meio BH; CD – Meio BH + diesel (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadantes dos respectivos consórcios. Cultivo a 30˚ C, por 24h. Diluição em solução salina (2% NaCl, pH 8,5).

Gráfico 06: Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *L. sativa* CD – Meio BH + diesel não degradado (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadante dos respectivos consórcios. Condições de cultivo dos consórcios: 150 rpm, 30˚ C, 7 dias. Condições de cultivo das sementes: 27˚ C, por 7 dias, no escuro. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Gráfico 07. Identificação dos gêneros constituintes do consórcio A3 baseada no perfil de proteínas ribossomais. No gráfico é apresentada a distribuição das proteínas ribossomais entre os gêneros bacterianos identificados através da busca no banco de dados *Uniprot.* O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foi "*Bacteria*" do *Uniprot.* Pesquisado em 20/03/2020.

Gráfico 08. Identificação das espécies constituintes do consórcio A3 baseada no perfil de proteínas ribossomais. No gráfico é apresentada a distribuição de proteínas ribossomais entre as espécies de cada um dos três gêneros mais prevalentes. O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foi "*Bacteria*" do *Uniprot*. Pesquisado em 20/03/2020.

Gráfico 09. Distribuição de proteínas ribossomais entre todas as espécies dos três gêneros mais prevalentes. O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foi "*Bacteria*" do *Uniprot*. Assumiu-se a tripsina como enzima de digestão proteolítica. Pesquisado em 20/03/2020.

RESUMO

A poluição causada pelos hidrocarbonetos tem sido relatada como um dos principais problemas ambientais no mundo há algumas décadas. As fontes de contaminação por hidrocarbonetos são as mais variadas possíveis, como vazamentos de óleo, vazamentos de tanques de combustível subterrâneos, águas produzidas por petróleo e gás, entre outras. Essas atividades podem causar sérios problemas ambientais e econômicos para os ecossistemas terrestres e marinhos. Os efeitos dessas atividades dependem do volume de contaminação, localização do acidente e, principalmente, das condições ambientais da época. O diesel é um combustível derivado do petróleo e está entre os mais consumidos. Na região amazônica, seu consumo é certamente mais elevado devido à grande quantidade de embarcações movidas a óleo diesel, o que pode ser um agravante para problemas ambientais na região. Alternativas que sejam capazes de promover a degradação de hidrocarbonetos, sem agravar ainda mais o problema ambiental, é de extrema importância diante do cenário atual. Entre as técnicas mais utilizadas nesse processo de descontaminação, a biorremediação tem ganhado destaque. É consenso na literatura que nenhum microrganismo tem capacidade de metabolizar totalmente o petróleo. Daí a busca constante para o isolamento de consórcios que promovam a degradação de uma maior quantidade de xenobióticos presentes no petróleo e seus derivados. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi selecionar um consórcio bacteriano capaz de degradar efetivamente hidrocarbonetos presentes no diesel e em seguida fazer uma análise proteômica desse consórcio bacteriano selecionado. Os consórcios foram coletados nas proximidades do porto do Ceasa na cidade de Manaus. No total 5 consórcios foram coletados, e todos eles se mostraram capazes de utilizar o diesel como fonte de carbono, em especial o A3, que se destacou em relação aos demais. Os resultados apresentados para esse consórcio foram os melhores para redução de DCPIP, emulsificação (em xileno, hexano e diesel), hidrofobicidade celular (em xileno, hexano e diesel), solubilização do diesel e no teste de toxicidade em *L. sativa*. A taxa de degradação do diesel pelo consórcio A3, em apenas 7 dias, foi superior a 70 %. A partir da análise do proteoma desse consórcio foram identificadas 890 proteínas pertencentes às espécies *Acinetobacter baumannii, Burkholderia cenocepacia* e *Cupriavidus taiwanensis*. Foram encontradas evidências para degradação de 11 compostos xenobióticos presentes no diesel, distribuídos entre compostos alifáticos e aromáticos. A análise detalhada da participação das proteínas identificadas nas rotas metabólicas utilizadas por cada espécie, possibilitou a proposição de ação sinérgica entre as três cepas constituintes do consórcio A3 para a metabolização do diesel. Dessa forma, o consórcio A3 tem um enorme potencial para a recuperação de áreas afetadas por diesel ou outros hidrocarbonetos de petróleo.

Palavras-chave: proteômica; consórcio microbiano; degradação de diesel; biorremediação; xenobiótico

ABSTRACT

Over the last few decades, pollution caused by hydrocarbons has been reported as one of the main environmental problems in the world. The sources of hydrocarbon contamination are as varied as possible, such as oil leaks, underground fuel tank leaks, waters contaminated by the production of oil and gas, among others. These activities can cause serious environmental and economic problems for terrestrial and marine ecosystems. The effects of these activities depend on the level of contamination, location of the accident and, above all, the environmental conditions at the time o the accident. Diesel is a fuel derived from oil and is among the most consumed of all fuels. In the Amazon region, its consumption is certainly higher due to the large amount of vessels powered by diesel oil, which can be an aggravating factor for environmental problems in the region. Alternatives that are able to promote the degradation of hydrocarbons, without further aggravating the environmental problem, is of extreme importance in the current scenario. Among the most used techniques in this decontamination process, bioremediation has gained prominence. There is, however, a consensus in the literature that no microorganism has the capacity to fully metabolize oil. Hence, the constant search for the isolation of consortia that promote the degradation of a greater amount of xenobiotics present in oil and its derivatives. Therefore, the objective of this work was to select a bacterial consortium capable of effectively degrading hydrocarbons present in diesel and then make a proteomic analysis of this selected bacterial consortium. The consortia were collected in the vicinity of the Port of Ceasa in the city of Manaus, Brazil. In total 5, consortia were collected, and all of them were able to use diesel as a carbon source, especially A3, which was superior to the others. The results presented for this consortium were the best for DCPIP reduction, emulsification (in xylene, hexane and diesel), cellular hydrophobicity (in xylene, hexane and diesel), diesel solubilization and in the toxicity test with *L. sativa*. The diesel degradation rate by the A3 consortium, in just 7 days, was higher than 70%. From the analysis of the proteome of this consortium, 890 proteins were identified. These proteins all belong to the species *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cenocepacia* and *Cupriavidus taiwanensis*. Evidence was found for the degradation of 11 xenobiotic compounds present in diesel, distributed between aliphatic and aromatic compounds. The detailed analysis of the participation of proteins identified in the metabolic routes used by each species, enabled the proposition of a synergistic action between the three strains that make up the A3 consortium for the metabolism of diesel. Thus, the A3 consortium has a huge potential for the recovery of areas affected by diesel or other petroleum hydrocarbons.

Keywords: proteomics; microbial consortium; diesel degradation; bioremediation; xenobiotic

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de petróleo ultrapassa os 88 milhões barris por dia. A produção brasileira é de aproximadamente 2,9 milhões de barris por dia, o que coloca o Brasil no 8º lugar no cenário mundial. Esse volume de óleo produzido corresponde a aproximadamente 32 % da demanda energética mundial. No século atual, com o progresso da civilização humana, há um aumento gradual na demanda global de energia de petróleo como fonte de combustível para aquecimento, combustível para transporte e produto de partida para indústrias químicas. Toda essa demanda aumenta as possibilidades de derramamentos e perdas. Entre os derivados de petróleo o óleo diesel é amplamente usado em todo o mundo como combustível. Devido à sua grande demanda como fonte de energia, a contaminação por esse combustível em específico ocorre muitas vezes como resultado da produção, manutenção, transporte, armazenamento e liberação acidental, levando a impactos ecológicos significativos.

A poluição causada pelos hidrocarbonetos tem sido relatada como um dos principais problemas ambientais no mundo há algumas décadas. A contaminação por hidrocarbonetos tornou-se uma questão ambiental mundial devido aos potenciais efeitos tóxicos em animais, seres humanos, plantas e microrganismos. Um derramamento de óleo na costa brasileira no final de agosto de 2019 mostrou que não estamos preparados para responder de modo rápido e efetivo diante de um cenário envolvendo o derramamento de óleo em grandes proporções. Nesse caso em específico, onde uma grande quantidade de petróleo bruto começou a se espalhar afetando mais de 2.000 km de costa brasileira, impactando mais de 40 áreas protegidas, a reação do governo brasileiro se mostrou muito lenta. Só após dois meses desde que os primeiros sinais de derramamento foram registrados é que o governo iniciou um plano de contingência do óleo. Na ausência de ações coordenadas do governo, membros da sociedade civil coletaram mais de 1000 toneladas de óleo de praias e manguezais, muitas vezes com equipamentos de segurança inadequados e, portanto, expondo-se a possíveis danos à saúde.

A Amazônia legal concentra vários campos de exploração e refino de petróleo, e isso tem cobrado seu preço. Diversos incidentes envolvendo o derramamento de óleo na região foram relatados nas últimas décadas. Para minimizar ou remediar o impacto causado na região, assim como em qualquer outra área afetada, são necessárias medidas para fornecer alertas às autoridades ambientais e às comunidades locais. O processo na tomada de decisão para recuperação de uma área que foi afetada tem que se basear em informações úteis e atuais. Essas decisões precisam ser

tomadas com informações sobre a avaliação dos impactos ambientais e sociais na área, bem como dos mecanismos capazes de promover a recuperação ou a minimização dos problemas gerados.

Diante do cenário posto, ações que visem a preservação e manutenção da floresta amazônica se mostram cada vez mais importantes. Buscar soluções que visem recuperar áreas impactadas com hidrocarbonetos de petróleo, tem se tornado quase que uma busca incessante pela comunidade científica. Existe a compreensão de que o petróleo é um "mal" necessário e que não estamos dispostos a abandoná-lo, e nem temos alternativas para tal, dada a nossa dependência atual. A alternativa então, é avançar na minimização dos riscos e dos impactos ambientais ocasionados pela exploração e comercialização do petróleo. A utilização de técnicas moleculares modernas como a proteômica, na elucidação vias metabólicas de degradação de compostos xenobióticos, pode apresentar resultados importantes para a identificação mais aprofundada dos processos relacionados a biodegradação dos hidrocarbonetos presentes no petróleo. Os resultados aqui obtidos irão contribuir para o entendimento dos processos de biorremediação, gerando subsídios para a comunidade científica e órgãos técnicos ligados a entidades governamentais e indústria petrolífera, para o aprimoramento na recuperação de áreas contaminadas por petróleo, óleo diesel ou outros derivados.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. ÓLEO DIESEL: CARACTERISTICAS GERAIS

Entre os combustíveis derivados de petróleo o óleo diesel é usado principalmente em motores com alta velocidade de rotação (acima de 1000 rpm), como em carros e navios (Ahmed e Fakhruddin, 2018). Os motores a diesel são amplamente utilizados no transporte, bem como em sistemas estacionários (geradores, etc.) para a produção de eletricidade. Além disso, é reconhecido que óleo diesel estará em uso comercial como a principal fonte de energia por pelo menos mais duas décadas (Yaqoob *et al*., 2021). O consumo global de diesel aumentou em 23 % durante 2000 – 2008, enquanto o aumento da demanda de gasolina foi de apenas 7% no período correspondente (IEA, 2008). As demandas esperadas de diesel entre 2012 e 2035 são > 5 milhões de barris/dia (Ramadass *et al*., 2017).

De um modo geral os hidrocarbonetos de petróleo e seus derivados são subdivididos com base nas faixas específicas de número ou fração de carbono. As frações contendo número de carbono de C_6 a C_{10} são classificadas como frações voláteis (Fração 1). A fração 2 é semivolátil e inclui o número de carbono acima de C_{10} (C_{10}-C_{16}). A fração 3 compreende o número de carbono > C_{16} a C_{34}, sendo denominados como uma fração não volátil. A fração 4, considerada a de mais baixa volatilidade e solubilidade de todas as outras frações, possui um número de carbono > C_{35} (Logeshwaran *et al*., 2018). O número de cadeias carbônicas no diesel é variável (Imron *et al*., 2020). Além disso, o teor de carbono normalmente está na faixa de 83-87 %, e o teor de hidrogênio varia entre 10 e 14 %, e ainda podem ser encontradas pequenas quantidades variáveis de nitrogênio, oxigênio, enxofre, como substâncias não metálicas, e Ni, Fe e V, como substâncias metálicas, que às vezes são adicionadas como aditivos (Imron *et al*., 2020; Ahmed e Fakhruddin, 2018).

A composição molecular dos hidrocarbonetos no diesel é dividida em três classes diferentes que são saturadas, insaturadas e aromáticas (Ahmed e Fakhruddin, 2018). Nos hidrocarbonetos saturados, todos os átomos de C têm ligação simples, enquanto nos hidrocarbonetos não saturados um ou mais átomos de C têm ligação dupla ou tripla. Essas classes são divididas novamente em grupos diferentes com base em sua forma, como alcanos, alquenos, aromáticos (mono-aromáticos), tiol e forma polar (Logeshwaran *et al*., 2018).

O diesel contém de 2.000 a 4.000 hidrocarbonetos com aproximadamente 24 % de *n*-alcano, 46 % de isoalcanos + cicloalcanos e 30 % de aromáticos (Imron *et al*., 2020; Imron *et al.,* 2019;

Logeshwaran *et al*., 2018; Titah *et al*., 2018), que são destilados em temperaturas que variam de 130 a 380 ^{o}C (Kebria *et al*., 2009; Menezes *et al*., 2006). Além disso, os hidrocarbonetos do diesel possuem baixa solubilidade em água, alto coeficiente de adsorção e alta estabilidade do anel aromático (Ziabari *et al*., 2016; Kebria *et al*., 2009). Por essas características, o diesel tem sido considerado também um poluente prioritário, que exerce efeitos bioquímicos nos seres humanos e em outros organismos vivos (Ziabari *et al*., 2016). Seus componentes são potencialmente carcinogênicos, tóxicos (Imron *et al.,* 2019; Titah *et al*., 2018) e contêm uma longa cadeia de hidrocarbonetos de difícil degradação (Imron *et al.,* 2019; Ramasamy *et al*., 2017).

Os hidrocarbonetos presentes no diesel podem ser agrupados ainda em alifáticos ou aromáticos, de acordo como a estrutura da cadeia carbônica. Por essa outra classificação os hidrocarbonetos presentes no diesel são compostos por 74 % de hidrocarbonetos alifáticos, 24 % de hidrocarbonetos aromáticos e 2 % de outros compostos. Os *n*-alcanos representam a maior porção dos hidrocarbonetos alifáticos presentes no diesel, e possuem cadeias lineares com vários comprimentos/números de átomos de carbono saturados (Logeshwaran *et al.,* 2018). A quantidade de cadeias carbônicas de alifáticos presentes no diesel é variável; entre C_{11} e C_{25} (Ramasamy *et al.* 2017) e entre C_{10} a C_{20} (Bhuvaneswar *et al*. (2012).

Já os hidrocarbonetos aromáticos podem ser classificados com base no arranjo do anel de benzeno. Baseado nessa classificação, os compostos aromáticos são agrupados em duas categorias: hidrocarbonetos monoaromáticos (MAHs) que contêm um único anel aromático e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) que contêm dois ou mais anéis aromáticos. Existem ainda aqueles que apresenta em suas estruturas químicas átomos diferentes de H/C (por exemplo, nitrogênio, enxofre). Esses compostos são chamados de aromáticos heterocíclicos, podendo ser da mesma forma, monoaromáticos ou policíclicos aromáticos (Morya *et al*., 2020).

2.1.1. Compostos tóxicos e perigosos no diesel

De acordo com a EPA/US a indústria de refino de petróleo é uma das dez principais fontes de liberação/emissão de produtos químicos tóxicos para o meio ambiente. Nos últimos anos, a poluição por hidrocarbonetos de petróleo tornou-se uma das preocupações globais mais sérias devido à sua toxicidade para microrganismos, bem como para formas superiores de vida, incluindo humanos. Entre os hidrocarbonetos associados ao petróleo, dezesseis PAHs estão listados como poluentes prioritários devido à alta estabilidade no meio ambiente (Varjani e Upasani, 2017). Estes

incluem: acenafteno, benzo[ghi]perileno, criseno, acenaftileno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, antraceno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, fluoranteno, indeno[1,2 , 3-cd]pireno, naftaleno, fenantreno, dibenzo[a, h]antraceno, fluoreno e pireno (Mojiri *et al*., 2019). Muitos desses compostos podem ser encontrados no diesel (Claxton, 2015).

Além dos HPAs, alguns dos hidrocarbonetos monoaromáticos também estão listados pela EPA/US como compostos prejudiciais e importantes, que devem ser eliminadas dos efluentes industriais antes de seu lançamento no meio ambiente (Khalid *et al.,* 2021). Entre eles o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, coletivamente chamados de BTEX, são os principais componentes do petróleo que são contaminantes ambientais prevalentes devido a derramamentos acidentais frequentes (Duan *et al.,* 2019). Em contraste com os hidrocarbonetos de cadeia longa, esses compostos têm peso molecular relativamente baixo. Uma vez que os BTEXs são expostos ao meio ambiente, eles se transformam em vapor, enquanto alguns compostos se dissolvem na água (Khalid *et al.,* 2021). A análise de água contaminada com diesel tem indicado a presença de compostos orgânicos voláteis, principalmente os BTEXs, os benzenos alquilados e naftaleno, sendo que a maioria desses compostos apresentam concentrações acima dos níveis de limites seguros (Ramadass *et al.,* 2017).

Os compostos alifáticos também são classificados como tóxicos. Entre eles, os hidrocarbonetos alifáticos clorados, representados pelo tricloroetileno, que foi classificado como o principal contaminante em águas subterrâneas, isso devido a sua resistência à degradação, toxicidade e natureza carcinogênica (Li *et al*., 2017). Embora em pequenas quantidades, compostos clorados estão presentes no diesel. Além disso, os dispersantes, adicionados ao óleo para reter a sujeira em suspensão, também contêm cloro (Jin *et al*., 2020).

2.1.2. Principais efeitos tóxicos dos hidrocarbonetos do diesel

Os PAHs são considerados a principal fonte de toxicidade entre os hidrocarbonetos. Entre os vários efeitos relatados, alguns dos PAHs levam à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) como subproduto do metabolismo. Essas substâncias permanecem persistentes no sedimento ou substratos lipofílicos e algumas delas apresentam propriedades carcinogênicas e mutagênicas (Breitwieser *et al.,* 2018). Entre todos os PAHs conhecidos, o benzo[a]pireno é reconhecido como o poluente mais perigoso, pois é extremamente cancerígeno (Gupte *et al.,* 2016).

Os PAHs são contaminantes orgânicos amplamente difundidos no meio ambiente, reconhecidos por terem efeitos carcinogênicos e mutagênicos, e por bioacumular no tecido humano e animal. Os PAHs também têm impactos prejudiciais sobre a fauna e a flora dos habitats afetados, resultando na absorção e acumulação de produtos químicos tóxicos por meio de cadeias alimentares (biomagnificação) e, em alguns casos, problemas graves de saúde e/ou defeitos genéticos em humanos (Mojiri *et al*., 2019).

Entre os BTEXs, o benzeno é listado como um carcinógeno do Grupo 1 pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), e o etilbenzeno foi classificado como um possível carcinógeno para humanos (Grupo 2B). Além disso, todos os quatro componentes do grupo BTEX tem influências bem documentadas no sistema nervoso central e nas funções imunológicas, como tontura, atopia, eczema, asma, irritação aguda nos olhos e na pele (Ran *et al*., 2018). Além desses efeitos já citados, o benzeno afeta adversamente a produção de sangue, o sistema nervoso central e o sistema linfático. O etilbenzeno é um potente carcinógeno e um de seus efeitos em humanos inclui perda auditiva (Morya *et al.,* 2020).

Os efeitos desses compostos sobre os animais aquáticos, também tem sido documentado, principalmente nos peixes. Entre os principais efeitos colaterais são citados comprometimento na capacidade respiratória, bem como, o equilíbrio iônico e o comportamento das espécies estudadas (Matsuo *et al.,* 2006; Brauner *et al.,* 1999). Há relatos ainda de que peixes expostos ao petróleo e derivados, ou apenas à fração solúvel em água destes compostos, podem ter sua a eficiência alimentar diminuída (Olsen *et al.,* 2007) e consequentemente redução no crescimento desses peixes em decorrência da exposição aos compostos do petróleo. Foram relatados ainda distúrbios na habilidade respiratória, alterações hematológicas e prejuízos ao sistema imunológico (Cohen *et al.,* 2005). Alterações morfológicas, mensuradas por meio de técnicas histopatológicas, já foram descritas em animais coletados após a ocorrência de derramamento de derivados de petróleo (Katsumiti *et al.,* 2009).

No solo os hidrocarbonetos bloqueiam a difusão do ar através dos poros, modificando também propriedades físicas e a condutividade hidráulica da umidade do solo. A modificação das características químicas e físicas do solo devido à poluição por hidrocarbonetos pode, portanto, afetar negativamente o crescimento das plantas (Grifoni *et al*., 2020). Estudos tem indicado que contato direto de plantas com óleo pode causar uma série de efeitos adversos que incluem: murcha e senescência foliar, perda de folhas, raízes deformadas, redução das taxas de sobrevivência das

mudas por inibir a germinação das sementes, diminuição da eficiência da fotossíntese, efeitos ecotoxicológicos e mutações (Naidoo *et al.,* 2010).

Os animais marinhos também são diretamente afetados pela contaminação por hidrocarbonetos. Um estudo sobre comunidades de corais após o vazamento de óleo na plataforma *Deepwater Horizon* no ano de 2010, relatou os impactos significativos do óleo na superfície dos corais, resultando em morte e esqueletos cobertos de hidrozoários a 1370 m de profundidade (Fisher *et al*., 2014). As aves marinhas são extremamente vulneráveis e sensíveis a derramamentos de óleo. A inalação ou ingestão de PAHs e outros constituintes oleosos pelas aves pode resultar na perda da capacidade de impermeabilização de suas penas, levando ao afogamento e hipotermia (Tran *et al*., 2014). Os répteis incluindo tartarugas, crocodilos e cobras marinhas também são vulneráveis aos efeitos nocivos do petróleo na superfície ou em águas rasas. O óleo pode afetar a troca gasosa normal em tartarugas marinhas, levando ao sufocamento e danificando os ovos de tartaruga à medida que componentes tóxicos penetram nos embriões em crescimento (Putman *et al.,* 2015).

2.2. POLUIÇÃO CAUSADA POR DIESEL

Embora o óleo diesel seja uma das principais fontes de energia, ele desempenha um papel fundamental na poluição ambiental global (Bhuvaneswar *et al*., 2012). A poluição causada por hidrocarbonetos do diesel, causa grave poluição ambiental e prejudica ecossistemas inteiros (Imron *et al.,* 2019; Titah *et al*., 2018; Isiodu *et al.,* 2016). A quantidade de diesel liberada nos ecossistemas terrestres e aquáticos é estimada em 1,7 a 8,8 milhões de toneladas por ano (Imron *et al.,* 2019; Titah *et al*., 2018). Além dos impactos ambientais causados pelos derrames de óleo durante o processo de exploração, transporte e refino (Logeshwaran *et al.,* 2018; Bao *et al*., 2012) a comercialização dos produtos refinados (essencialmente os combustíveis) também causa impactos ambientais relevantes. Esses produtos oferecem riscos de contaminação dos solos pela forma como são distribuídos ao consumidor e como são armazenados (Liang *et al*., 2011). Há evidências indicando que em algumas áreas os riscos de derrames são mais acentuados do que em outras áreas do mundo. Isso devido ao aumento do consumo do petróleo e de seus subprodutos nessas áreas (Bowen e Depledge, 2006; Kirby e Law, 2010). Tais riscos estão relacionados, por exemplo, a vazamentos de tanques de armazenamento nos postos de combustíveis e pequenos

derrames no processo de carga e descarga desses produtos (Logeshwaran *et al*., 2018; Bao *et al*., 2012).

Acidentes envolvendo o derramamento de óleo diesel tem sido reportado em vária partes do mundo. Como por exemplo o que aconteceu em 14 de dezembro de 2013, que envolveu o derramamento de 180.000 L de óleo diesel no porto de *Skjervøy*, localizado no norte da Noruega. A análise da composição desse óleo derramado, revelou a presença de HAPs de baixo peso molecular, como fenantreno, pireno e antraceno, entre as principais substâncias liberadas no meio ambiente (Breitwieser *et al*., 2018).

Em fevereiro de 2001, o rompimento de um oleoduto na Serra do Mar, cidade de Morretes, estado do Paraná, sul do Brasil, causou um vazamento de aproximadamente 52.000 litros de óleo diesel. O óleo se espalhou por vários rios locais, incluindo os rios Carambuí, Meio, Sagrado, Neves e Nhundiaquara. Cinco barreiras de contenção foram instaladas como um esforço para minimizar a propagação de óleo. Porém, a contaminação por óleo se estendeu por aproximadamente 28 km do local do derramamento ao longo desses rios, cruzando ambientes com geomorfologia e características geológicas distintas, o que acarretou em mudanças no transporte e persistência no ambiente desse óleo derramado (Horodesky *et al*., 2015).

E mais recentemente, em março de 2019, em um município do Paraná-Brasil, ocorreu um acidente envolvendo um caminhão transportando óleo diesel resultando no vazamento de aproximadamente 40.000 L de combustível, o que resultou na interrupção do abastecimento de água em algumas cidades (Martins *et al*., 2020). Em dezembro de 2019, ocorreu um derramamento de óleo diesel nas Ilhas Galápagos, no Equador, após o naufrágio de um navio de transporte com 600 galões de diesel (Martins *et al*., 2020).

2.2.1. Acidentes com óleo na Amazônia

A notável biodiversidade Amazônica é frequentemente atacada por um número crescente de ameaças, como a expansão da energia hidrelétrica (Val *et al.*, 2016), desmatamento (Soares-Filho *et al.,* 2014), mineração (Meira *et al.,* 2016) e poluição direta por atividades petrolíferas (Kimerling, 2013). Esta última ameaça, é ainda mais grave quando se considera que o risco de poluição por óleo é notavelmente alto em áreas tropicais e subtropicais, pois essa áreas concentram cerca de 60 % da produção de petróleo global. Só no Brasil, a produção de petróleo cresceu, em média, 5 % ao ano desde 2000 (Sardi *et al*., 2017).

A perfuração de petróleo na bacia amazônica começou entre 1980 e 1990 e aumentou nas últimas décadas. O campo de exploração de petróleo mais importante da região está localizado na cidade de Coari-AM às margens do rio Urucu (afluente do rio Negro), a 600 km de Manaus (Duarte e Val, 2020). A bacia do Urucu é conhecida por produzir óleo de alta qualidade, principalmente para a produção de diesel e nafta no Brasil. O gás natural também é um importante produto da região (Campeão *et al*., 2017). O risco de contaminação das massas de água amazônicas por hidrocarbonetos é uma grande ameaça devido ao aumento da exploração de petróleo naquela região nas últimas décadas. O risco de derramamento de óleo e contaminação é particularmente alto em torno das áreas de exploração e da rota de transporte percorrida por barcaças de Coari a Manaus, onde o petróleo é refinado (Duarte *et al.,* 2010; Duarte e Val, 2020). Na verdade, já foram reportados alguns acidentes que resultaram na liberação de quantidades significativas de óleo e seus derivados em corpos d'água.

Foi relatado, por exemplo o vazamento, em 2016, de aproximadamente 477.000 L de petróleo o rio Marañon, na porção peruana da Amazônia, um dos principais afluentes do rio Amazonas (Azevedo-Santos, 2016; Mega, 2016). Em 30 de junho de 2014, um derramamento de óleo do oleoduto do Norte do Peru liberou 2.358 barris de petróleo bruto para o meio ambiente, cobrindo mais de 87.000 m^2 do território da comunidade indígena de Cuninico. Poucos meses depois, em 16 de novembro de 2014, um derramamento de óleo na mesma região liberou cerca de 7.800 barris de óleo cru afetando o território da comunidade indígena de San Pedro (O'Callaghan-Gordo *et al*., 2018).

Também existem relatos de incidentes no Equador. Em 1967, um consórcio de empresas estrangeiras - subsidiárias integrais da Texaco e do Golfo, ambas agora parte da Chevron – encontraram o petróleo na região equatoriana da Amazônia, perto do território de Huaorani. Os projetos de exploração de petróleo pela Texaco/Chevron no Equador têm derramado petróleo por mais de 30 anos naquela região (Azevedo-Santos, 2016; Kimerling, 2006). Durante as primeiras décadas da produção de petróleo, bilhões de galões de água de formação tóxica foram dispostos em poços abertos sem tratamento ou monitoramento ambiental. Ao longo dos anos, o lixo tóxico se infiltrou no ambiente natural, causando poluição da água, do solo e da vegetação. Além disso, derramamentos de óleo acidentais e liberados das redes de dutos resultaram em aproximadamente 16,8 milhões de galões de petróleo bruto vazando para o meio ambiente. Mais de 800 derrames de óleos detectados e mais de 1200 poços abertos foram fontes de poluição durante as últimas décadas

(Arellano *et al.,* 2017). Em 2013, cerca de 11.480 barris de petróleo vazaram de um oleoduto danificado no rio Coca, no Equador. O vazamento atingiu a região amazônica peruana de Loreto (BBC News, 2013). O rio Coca é um dos afluentes do rio Amazonas no Equador. Grandes áreas estão programadas para o futuro desenvolvimento de exploração de petróleo na região amazônica, indicando que os distúrbios por essas atividades aumentarão na região, particularmente em bacias altas e cabeceiras de rios (Azevedo-Santos, 2016).

A porção brasileira da Amazônia também tem sofrido desastres ambientais ocasionados por derrame de óleo nos rios da região. Um oleoduto foi quebrado em agosto de 1999, liberando óleo cru no córrego Cururu, localizado em Manaus. Após o acidente, o óleo espalhou-se lateralmente na superfície da água, cobrindo a zona bentônica e os sedimentos ao longo da beira do riacho, deixando uma espessa camada de resíduos. Grande parte do óleo derramado foi removido no mês seguinte ao acidente. No entanto, uma pequena quantidade continuou a entrar no sistema do riacho, vindo do fundo do riacho, cobrindo esporadicamente o solo adjacente durante as estações de enchente e cheia (Couceiro *et al*., 2006)

Em 2013, um acidente com uma barcaça de transporte de cimento asfáltico de petróleo (CAP) lançou cerca de 60 mil litros de CAP nas águas do rio Negro, próximo ao porto de São Raimundo, em Manaus. Embora alguns protocolos de mitigação tenham sido empregados a fim de reduzir o impacto da liberação de CAP, a concentração total de PAHs na água foi substancialmente elevada 45 dias após o derramamento. Um estudo envolvendo duas espécies de peixes ciclídeos *Satanoperca jurupari* (Acará-catitu) e *Acarichthys heckelii* (Acará Heckeli) detectou a presença de metabólitos de hidrocarbonetos do tipo pireno, benzo[a]pireno e naftaleno na bile desses peixes (Duarte e Val, 2020).

E mais recentemente, entre agosto de 2018 e fevereiro de 2019, dois incidentes foram registrados em portos da cidade de Manaus, de acordo como Instituto de Proteção Ambiental do Amazonas - IPAAM. O primeiro envolveu o naufrágio de uma embarcação próximo ao porto da CEASA, que espalhou mais de 1,8 mil litros de vazamento de óleo combustível marítimo (OCM) (IPAAM, 2018). Uma extensão de aproximadamente 10 km do Rio Negro foi atingida. De acordo com o órgão de controle ambiental, o acidente aconteceu após o naufrágio de uma embarcação no porto da empresa pertencente ao grupo Chibatão. O óleo, segundo o IPAAM, atingiu áreas de vegetação natural no igarapé do Mauazinho, considerada uma Área de Preservação Permanente (APP). No segundo acidente, aproximadamente 30 toneladas de emulsão asfáltica se espalharam

por uma extensão de 1,5 quilômetros, nas proximidades do Porto do São Raimundo, zona oeste de Manaus. Uma carreta que transportava a emulsão asfáltica vazou após uma tentativa de furto ao tanque, e a substância tóxica acabou sendo despejada no local e atingindo também o rio Negro (IPAAM, 2019).

Existe ainda o problema relacionado aos meios de transporte na região. As embarcações fluviais tradicionalmente utilizadas na região amazônica brasileira utilizam principalmente óleo diesel como combustível, reconhecidamente poluentes devido à formação de material particulado e outros compostos orgânicos provenientes da combustão do combustível (Koslowski *et al.,* 2020). E tem ainda a risco ambiental relacionado a possibilidade do combustível armazenado no tanque das máquinas, ou mesmo estocado para reabastecimento, ir parar nos rios e lagos da região. Dada a grande extensão territorial percorrida por essas embarcações, a quantidade de combustível transportado é da ordem de centenas a milhares de litros. Acidentes na região são pouco relatados, porém acontecem, principalmente aqueles envolvendo embarcações de pequeno e médio porte. Segundo estimativas da Diretoria de Portos e Costas – DPC, da Marinha do Brasil, somente no estado do Amazonas, foram instaurados 94 Inquéritos Administrativos sobre Acidentes e Fatos da Navegação (IAFNs) devido a acidentes fluviais em 2020 (DPC, 2021).

Nos casos de derramamento de óleo em rios da Amazônia o vento facilita a dispersão do óleo até as margens dos rios, acabando por contaminar mais de um ambiente. Registra-se ainda o caso dos ciclos de cheia e seca, que contribuem para que as proporções de um derramamento sejam ainda mais negativas, principalmente durante a cheia, época em que parte da floresta está submersa (Val, 1997).

A ocorrência de um derramamento de óleo na região afeta principalmente os peixes, provocando uma série de distúrbios. Inicialmente as brânquias, principal rota de absorção de poluentes aquáticos, seriam afetadas. Os hidrocarbonetos de petróleo promovem danos estruturais no epitélio respiratório branquial, afetando os processos de troca gasosa e limitando a transferência de oxigênio em organismos aquáticos. Com o comprometimento das funções das guelras, são induzidos distúrbios respiratórios, de regulação iônica e inibição da absorção de Na^+ (Duarte *et al.,* 2010). Além disso, entre os peixes da Amazônia há uma miríade de espécies que desenvolveram adaptações para explorar a interface água-ar, o que traz outra dimensão para os efeitos da interação peixe/óleo. Além de respirar, muitas dessas espécies também se alimentam de frutos flutuantes que

caem das árvores, o que torna o derramamento de óleo, formando uma camada no topo da coluna d'água, uma preocupação real (Kochhann *et al*., 2015).

2.3. BIODEGRADAÇÃO DO ÓLEO DIESEL

As metodologias utilizadas para remediação de áreas contaminadas com óleo são classificadas em métodos mecânicos ou físicos, químicos e biológicos, dependendo dos tipos de insumos usados para promover a separação ou mesmo recuperação do óleo. Cada um deles terá suas vantagens, desvantagens e cenários específicos da aplicação, não sendo absolutos para todos os casos (Ajona e Vasanthi, 2021; Oliveira *et al*., 2021). As técnicas clássicas física, química, térmica e biológicas que estão disponíveis incluem barreiras de contenção, uso de adsorventes, surfactantes, dispersantes, queima *in situ* e biorremediação para remoção desses contaminantes (Singh *et al*., 2020).

Os métodos mecânicos ou físicos são aqueles que incluem barreiras flutuantes de contenção para mitigar o processo de expansão do óleo ou direcionar seu fluxo para regiões de menor dano. Barras também são responsáveis por concentrar o óleo para que a parte dele possa ser recuperada por meio da aplicação de materiais absorventes ou de equipamentos coletores flutuantes chamados *skimmers* (Al-Majed *et al.* 2012). Um método físico aplicado para o controle imediato e remediação de derramamentos é a combustão *in situ*, que consiste na queima da camada de óleo na superfície em que foi derramado (Al-Majed *et al.* 2012).

Os métodos químicos são aqueles baseados na aplicação de agentes que visam modificar a interação do óleo com a água, como coagulantes, floculantes, dispersantes ou agentes de solidificação, facilitando sua posterior remoção (Bazargan *et al.*, 2015).

Os métodos biológicos são aqueles que visam a aplicação de sistemas de microrganismos, ou mesmo geram cenários convenientes para o desenvolvimento destes, inserindo nutrientes ou oxigênio no meio afetado, de forma que a ação bacteriana resulte na biodegradação do óleo derramado (Doshi *et al.,* 2018). Os métodos biológicos incluem a biorremediação e a biodegradação do óleo por microrganismos naturais que são amplamente distribuídos na ecologia global. A biorremediação visa estimular a taxa de biodegradação natural, sem causar nenhum impacto adverso. Vários gêneros de bactérias e fungos comedores de óleo são responsáveis pela decomposição e metabolismo dos hidrocarbonetos e outros contaminantes químicos presentes nos óleos (Singh *et al*., 2020).

Vários métodos, como tratamentos físicos, químicos e biológicos, estão disponíveis para remediação de áreas contaminadas com diesel. Entre esses métodos, um tratamento biológico que utiliza microrganismos é considerado econômico, ecológico e alcança bons resultados na degradação do diesel (Imron *et al*., 2019; Logeshwaran *et al*., 2018). O tratamento biológico utilizando bactérias isoladas de áreas contaminadas com diesel é considerado eficiente. Esses microrganismos podem produzir enzimas que os tornam capazes de utilizar o diesel como fonte de carbono e energia (Imron *et al*., 2019; Patil *et al*., 2012).

O desastre envolvendo a plataforma de petróleo *Deepwater Horizon* liberou cerca de 4,9 milhões de barris de petróleo bruto da Louisiana do Sul no Golfo do México de 20 de abril a 15 de julho de 2010. É a maior liberação não intencional de óleo para o ambiente marinho na história dos Estados Unidos. Foram afetados cerca de 1.773 km da costa do Golfo do México, dos quais 45% eram pântanos costeiros. A mitigação ou limpeza do óleo envolveu queima controlada *in situ,* uso de 1,84 milhões de galões de dispersantes, uso de navios *skimmer*, barreiras de contenção flutuantes e remoção manual na Louisiana (Singh *et al*., 2020). Isso tudo a um custo total de $ 65 bilhões, incluindo limpeza e custos legais em multas criminais e acordos judiciais (Little *et al*., 2021). Apesar de todos os esforços empregados, a remediação não atingiu totalmente todas as áreas afetadas. No caso em específico dos pântanos costeiros, por exemplo, mitigação ou limpeza do óleo ocorreu em apenas 8,9% das áreas impactadas (Turner *et al.*, 2014).

2.3.1. Biorremediação

A biodegradação é um processo pelo qual pequenos organismos como bactérias, leveduras e fungos quebram compostos complexos em compostos menores para seus alimentos (Al-Majed *et al.* 2012). É um processo natural que ocorre sem interferência humana (Pant *et al.,* 2021). A biorremediação é o processo de aplicação da biodegradação para limpeza de derramamento de óleo envolvendo a introdução artificial de agentes biológicos, como fertilizantes e nutrientes, em microrganismos nativos no local contaminado para que eles proliferem (bioestimulação) ou a introdução de microrganismos não nativos (bioaumentação) para acelerar o processo natural de biodegradação de forma a recuperar áreas contaminadas (Al-Majed *et al.* 2012). A biorremediação pode envolver bactérias, algas e fungos, plantas etc. para degradar uma substância (Pant *et al.,* 2021).

A biodegradação é um processo lento, enquanto a biorremediação é um processo mais rápido. A interferência humana é usada para regular a taxa de biorremediação, pela regulação da temperatura, disponibilidade de alimentos ou nutrientes etc. Por outro lado, a biodegradação é regulada pela natureza. A biodegradação ocorre em toda parte e em qualquer lugar, enquanto em um local poluído, a biorremediação é esperada. A biodegradação (como a corrosão de um metal, por exemplo) pode ser benéfica ou prejudicial, enquanto a biorremediação sempre se destina a ser benéfica (Pant *et al.,* 2021).

Os microrganismos possuem a capacidade de se adaptarem a situações extremas, o que consequentemente os tornam fisiologicamente versáteis. Isso faz com que uma mesma espécie consiga se desenvolver em ambientes totalmente diferentes. Essa característica torna-os aptos a metabolizar e, frequentemente, a mineralizar um grande número de moléculas orgânicas, fato que contribui significativamente para seu emprego em processos de biorremediação de áreas contaminadas (Campeão *et al*., 2017). Em ambientes aquáticos, por exemplo, os microrganismos podem transformar quimicamente por meio da ação de enzimas específicas compostos contaminantes. Nesse processo, energia ou outro receptor de elétron do meio é liberado e oxigênio consumido. Consequente a presença desses receptores de elétrons, além de outros nutrientes tais como nitrogênio, fósforo, minerais traços, e é claro, a fonte de carbono, que nesse caso são os poluentes orgânicos, possibilitam o crescimento microbiano, o que culmina na conversão dos poluentes a produtos de oxidação que geralmente terminam em dióxido de carbono e água (Singh *et al*., 2020). Os constantes vazamentos de hidrocarbonetos (ao longo de milhões de anos), principalmente os advindos do petróleo, tem provocado nas comunidades microbianas adaptações que as tornam capazes de quebrar esses hidrocarbonetos (Little *et al*., 2021).

2.3.2. Biorremediação do diesel por bactérias

A fácil adaptabilidade aos mais diferentes tipos de ambientes faz das bactérias os microrganismos mais empregados na biorremediação de ambientes contaminados. Existem diversos trabalhos envolvendo bactérias na degradação de hidrocarbonetos (Hasanuzzaman *et al*., 2007; Al-Saleh *et al*., 2009; Das e Chandran, 2011; Bhasheer *et al*., 2014; Mnif *et al*., 2015; Imron e Titah, 2018; Karlapudi *et al*., 2018; Lee *et al*., 2018; Logeshwaran *et al*., 2018; Tiralerdpanich *et al.,* 2018; Imron *et al*., 2019; Imron *et al*., 2020; Adetunji e Olaniran, 2021).

Estudos recentes demonstraram a presença comum de bactérias degradadoras de óleo em diversas áreas geográficas pelo mundo todo (Campeão *et al*., 2017). Vários desses trabalhos tem demostrado a capacidade desses microrganismos de decompor a estrutura de hidrocarbonetos presentes no diesel (Bhuvaneswar *et al*., 2012; Bhasheer *et al*., 2014; Cruz *et al*., 2014; Horel a Schiewer, 2014; Ayed *et al*., 2015; Auffret *et al*., 2015; Maddela *et al.,* 2015; Nkem *et al.,* 2016; Mnif *et al*., 2017; Morales-Guzmán *et al.,* 2017; Imron e Titah, 2018; Lee *et al.,* 2018; Mohammed *et al*., 2018; Chen *et al*., 2019; García-Cruz *et al*., 2019; Imron *et al.,* 2019; Sowani *et al.,* 2020). Bactérias isoladas de ambientes contaminados, como *Pseudomonas sp*., *Bacillus sp*. e *Acinetobacter sp.,* são consideradas eficazes na degradação do diesel devido à sua adaptabilidade, resistência, tolerância e sobrevivência quando expostas ao poluente. Elas têm um metabolismo especial que já se adaptou para prevenir sua morte, alterando ou contornando certas reações metabólicas e enzimáticas (Imron *et al*., 2020).

Vias metabólicas de degradação dos PAHs foram identificadas em diferentes espécies de bactérias. Esses estudos mostram ainda que a quebra de tais compostos aromáticos pode ser promovida de forma aeróbica e de forma anaeróbica (Ghosal *et al*., 2016; Isiodu *et al.,* 2016; Gurav *et al*., 2017; Liu *et al*., 2017; Oyehan e Al-Thukair, 2017; Logeshwaran *et al*., 2018; Li *et al*., 2020b). Embora essa degradação aconteça de forma satisfatória nos dois casos, existe relato indicando que tal processo ocorre mais rapidamente quando na presença de oxigênio (Díaz, 2004; Logeshwaran *et al.,* 2018). Já em relação aos alcanos, também existem muitas bactérias capazes utilizá-los como fonte de carbono (Hasanuzzaman *et al*., 2007; Liu *et al*., 2011; Gurav *et al*., 2017; Li *et al*., 2017; Kadri *et al.,* 2018; Imron *et al.,* 2020; Liu *et al.,* 2021). Existem inclusive aquelas espécies altamente especializadas na degradação de hidrocarbonetos, que utilizam preferencial os hidrocarbonetos à qualquer outra fonte de energia. Tais espécies são chamadas hidrocarbonoclásticas e desempenham um papel fundamental na remoção de hidrocarbonetos de ambientes poluídos (Kadri *et al*., 2018; Rodrigues *et al*., 2020). Um exemplo interessante a esse respeito é a espécie *Alcanivorax borkumensis*. Essa espécie metaboliza uma grande quantidade de hidrocarbonetos lineares e ramificados (Kadri *et al*., 2018).

O gênero *Acinetobacter* é um dos mais bem caracterizados em relação ao seu envolvimento em processos de biorremediação (Mnif *et al*., 2015; Imron e Titah, 2018; Karlapudi *et al*., 2018; Lee *et al*., 2018; Logeshwaran *et al*., 2018; Tiralerdpanich *et al.,* 2018; Imron *et al*., 2019; Adetunji e Olaniran, 2021). Também existem vários relatos da participação do gênero

Burkholderia nesses processos (Guazzaroni *et al*., 2013; Sarkar *et al*., 2017; Varjani, 2017; Lee *et al*., 2018; Logeshwaran *et al*., 2018; Mohammed *et al*., 2018; Morya *et al*., 2020). Outro gênero que também tem sido bastante empregado na degradação de hidrocarbonetos é o *Cupriavidus* (Tiwari *et al*., 2017; Li *et al.,* 2019; Min *et al.,* 2019; Ibrar e Zhang, 2020; Li *et al*., 2020; Min *et al*., 2020; Tiwari *et al*., 2020; Yi *et al*., 2020; Deng e Zhou, 2021).

Mais recentemente, as técnicas de engenharia genética para "construir bactérias" com uma capacidade de degradação aprimorada, tem aberto o caminho e as possibilidades para a desintoxicação mais eficiente desses poluentes persistentes do meio ambiente. Tanto a estratégia *in vitro*, quanto a *in vivo*, isto é, clonagem de genes e transferência de um plasmídeo inteiro para uma cepa podem ser usadas para construir esses microrganismos modificados (Liu *et al*., 2021; Pant *et al*., 2021).

2.3.3. Uso de consórcios bacterianos na biorremediação do diesel

Dada a complexidade dos hidrocarbonetos, é necessária a cooperação sinérgica entre espécies diferentes de microrganismos para a completa degradação e a mineralização dos compostos (Gurav *et al*., 2017). A associação de microrganismos é conhecida como consórcio microbiano, podendo envolver uma variedade microrganismos. Cada uma das espécies presentes no consócio, metaboliza individualmente, um número limitado de hidrocarbonetos. Nos processos aeróbicos, o oxigênio é requerido para o processo de biodegradação, envolvendo o catabolismo dos hidrocarbonetos por ação de oxidases (Ghazali *et al*., 2004).

A seleção de consórcios microbianos com capacidade de degradação de hidrocarbonetos é mais comum a partir de áreas contaminadas com esses compostos (Reyes-Sosa *et al.,* 2018). Desse modo, o solo tem se mostrado promissor quando se trata da prospecção de microrganismos, principalmente no que diz respeito à degradação de compostos xenobióticos. Ambientes costeiros também abrigam diversas comunidades microbianas, que podem conter gêneros com potencial atividade de biorremediação. Esses locais abrigam gêneros bacterianos comumente relatados em áreas poluídas por hidrocarbonetos e reservatórios de petróleo, bem como especialistas na degradação de hidrocarbonetos como *Alcanivorax* e *Cycloclasticus.* O local onde os microrganismos são coletados favorece ampliação da quantidade de xenobióticos que podem ser quebrados por esses microrganismos (Reyes-Sosa *et al.,* 2018). Os locais contaminados são ambientes tipicamente hostis onde as bactérias podem evoluir para desenvolver mecanismos

catabólicos extraordinários para sua sobrevivência e para superar o estresse da toxicidade (Morya *et al.,* 2020).

Os consórcios bacterianos com um espectro maior de enzimas hidrolíticas, quando comparados aos isolados, exibem a possibilidade de usar uma quantidade também maior de substrato. A maior diversidade de enzimas favorece habilidades metabólicas que se complementam, contribuindo assim, para a adaptação dos constituinte do consórcio aos ambientes contaminados, o que os leva a receberem mais atenção do que uma única cepa (Jia *et al*., 2016). Mariano *et al*. (2008), comparou a biodegradação de óleos diesel comerciais e intemperizados e concluiu que os consórcios tinham melhor potencial de biodegradação do que as culturas puras, uma vez que isolados individuais podem não exibir degradação.

Bhuvaneswar *et al.* (2012) avaliaram cepas de *Pseudomonas sp., Micrococcus sp., Staphylococcus sp., Bacillus sp., Flavobacterium sp., Achromobacter sp., Klebsiella sp., Actinomicetes sp., Acetobacter sp.* e *Rhodococcus sp*. que foram isolados de ambientes contaminados com diesel. O consórcio dessas bactérias teve processos sinérgicos para quebrar os hidrocarbonetos do diesel e utilizá-lo como fonte de carbono. Almeida *et al*. (2017) testou vários consórcios capazes de degradar um tipo de combustível naval (MF-380), e o consórcio mais promissor alcançou biodegradação de 93,5% no desenho experimental e atingiu níveis de degradação otimizados em ensaio no biorreator para os constituintes do combustível. Outro consórcio bacteriano (Mix3) composto por microrganismos oriundos de diferentes ambientes (solos e águas residuais) foi obtido após enriquecimento na presença de uma mistura de 16 hidrocarbonetos, além de gasolina e óleo diesel. Foram isoladas 14 bactérias com capacidades de degradação dos hidrocarbonetos (Auffret *et al*., 2015).

Um consórcio microbiano nativo para a biorremediação de solo contaminado com óleo diesel na Coréia foi construído e sua capacidade de biodegradação foi avaliada. Cepas microbianas isoladas de ambientes terrestres coreanos, com potencial para biodegradar hidrocarbonetos alifáticos, PAHs e resinas, foram investigadas. Sete cepas microbianas, *Acinetobacter oleivorans* DR1, *Corynebacterium sp.* KSS-2, *Pseudomonas sp. AS1*, *Pseudomonas sp.* Neph5, *Rhodococcus sp*. KOS-1, *Micrococcus sp*. KSS-8 e *Yarrowia sp*. *KSS-1* foram selecionados para a construção de um consórcio microbiano com base em sua capacidade de biodegradação, hidrofobicidade e atividade emulsificante. Os testes de biodegradação em escala laboratorial e em massa mostraram que em solo contaminado com óleo diesel suplementado com nutrientes (nitrogênio e fósforo), o

consórcio microbiano melhorou claramente a biodegradação dos hidrocarbonetos, e todas as cepas microbianas que constituem o consórcio microbiano, o que sugere que o consórcio microbiano pode ser usado para a biorremediação de solo contaminado com óleo diesel (Lee *et al.,* 2018).

Muitas espécies, como *Acinetobacter sp*., *Vibrio sp*., *Moraxella sp*., e *Bacillus sp*., podem, por exemplo, degradar hidrocarbonetos (Imron *et al*., 2019; Das e Chandran, 2011). Esses microrganismos podem produzir biossurfactantes para aumentar a solubilidade do diesel, facilitando assim o processo de assimilação dos hidrocarbonetos pelos microrganismos (Imron *et al*., 2019).

A etapa inicial de interação entre os poluentes do óleo e o microrganismo envolve um contato direto entre eles. Essa interação direta é dependente da estrutura da parede celular, ou seja, da hidrofobicidade de sua superfície. Durante o contato direto, os hidrocarbonetos penetram na célula como gotas submicroscópicas. A atividade do surfactante e a hidrofobicidade favorecem a interação entre o microrganismo e o substrato insolúvel, superando a limitação da difusão durante o transporte do substrato para a célula (Karlapudi *et al.,* 2018). Bactérias que possuem capacidade de degradação de óleo juntamente com produção de agente tensoativos sob condições anóxicas são mais eficazes para metanogênese *in situ* em reservatórios de petróleo (Zhao *et al.*, 2016). As bactérias que degradam hidrocarbonetos produzem uma variedade de biossurfactantes que permanecem ligados à superfície celular ou podem ser liberados como moléculas extracelulares (Karlapudi *et al*., 2018). Os biossurfactantes podem reduzir efetivamente as tensões interfaciais de óleo e água *in situ*, bem como a viscosidade do óleo (Adetunji e Olaniran, 2021). Waigi *et al*. (2015) relataram a produção de biossurfactante como característica autecológica que aumenta a biodisponibilidade de hidrocarbonetos, o contato de células microbianas e substratos e o transporte de massa em microrganismos.

2.3.4. Principais rotas catabólicas para diesel em microrganismos

Locais poluídos com óleo diesel são difíceis de remediar porque têm características menos voláteis e menos biodegradáveis em comparação com a gasolina, por exemplo (Wang *et al*., 2016). A tendência de biodegradação dos compostos diesel segue uma ordem decrescente: *n*-alcanos > alcanos ramificados > monoaromáticos > cicloalcanos > poliaromáticos. Os *n*-alcanos são considerados instáveis, menos tóxicos e facilmente usados pelas bactérias como fonte de carbono. São identificados como mais suscetíveis e vulneráveis ao ataque de bactérias do que outras formas

de hidrocarbonetos (Imron *et al.,* 2020). Para a biorremediação de xenobióticos orgânicos do local poluído, os micróbios adotam vários mecanismos, incluindo oxidação, redução, clivagem hidrolítica, desalogenação etc. (Pant *et al*., 2021).

A degradação de hidrocarbonetos por microrganismos ocorre como resultado da catálise por enzimas intracelulares que envolve quatro etapas importantes. A primeira etapa crucial do processo começa com os microrganismos absorvendo poluentes e secretando surfactantes para facilitar a emulsificação. Em uma segunda etapa, os poluentes emulsificados são adsorvidos na superfície da membrana celular. Em uma terceira etapa, eles entrarão diretamente na membrana celular por endocitose na forma de transporte ativo ou passivo e sofrerão uma reação enzimática (quarta etapa) com as respectivas enzimas como catalisadores para completar o processo geral (Khalid *et al*., 2021).

Os microrganismos utilizam os hidrocarbonetos por meio de três tipos principais de vias metabólicas, como fototrófica (anoxigênica), quimiotrófica (aeróbia) e quimiotrófica (anaeróbica). Vias como a oxidação terminal, oxidação sub-terminal, ω-oxidação e β-oxidação estão envolvidas na degradação de uma diversidade de compostos de hidrocarbonetos. Os alcanos geralmente sofrem oxidação terminal ou subterminal mediada por diversos sistemas de alcano hidroxilase, incluindo metano monooxigenases (genes *mmO*, *pmoA*), alcano hidroxilases (ou alcano monooxigenases, *alkB*) e citocromo P450 - tipo alcano hidroxilases (genes CYP153). Os produtos de oxidação são posteriormente oxidados por álcool e aldeído desidrogenases, enquanto os ácidos graxos resultantes entram no ciclo do ácido tricarboxílico (Al-Hawash *et al*., 2018; Logeshwaran *et al.,* 2018; Imron *et al*., 2020; Khalid *et al*., 2021). A biossíntese da biomassa celular ocorre a partir dos metabólitos dos precursores centrais, como o acetil-CoA, o piruvato e o succinato (Al-Hawash *et al*., 2018). Uma degradação completa de compostos de hidrocarbonetos produz ATP usado para metabolismo bacteriano e, finalmente, produz CO_2 e H_2O como subprodutos das reações do metabolismo aeróbio (Imron *et al*., 2020; Ajona e Vasanthi *et al*., 2021).

Os sistemas enzimáticos microbianos desempenham um papel vital nas vias de degradação de hidrocarbonetos alifáticos. As monooxigenases presentes nos microrganismos catalisam a oxidação inicial dos *n*-alcanos em álcoois. Uma monooxigenase ligada à membrana, uma rubredoxina e um complexo rubredoxina redutase medeiam troca de elétrons através de NADH na conversão do alcano em álcool (Logeshwaran *et al.,* 2018; Imron *et al*., 2020). Hidroxilases codificadoras do gene *alkB* foram relatadas como amplamente distribuídas em gêneros bacterianos

pertencentes a B*urkholderia, Acinetobacter, Pseudomonas, Alcanivorax, Oleiphilus, Mycobacterium, Rhodococcus, Nocardia* e *Prauserella* (Logeshwaran *et al.,* 2018).

As vias de degradação anaeróbia em ambientes terrestres têm recebido menos atenção. Na oxidação anaeróbica de alcanos, o sulfato ou nitrato atua como um aceptor de elétrons (Khalid *et al*., 2021). Algumas espécies microbianas anaeróbias também podem degradar os hidrocarbonetos em certas circunstâncias. Por exemplo, uma cepa de resistente ao benzeno, *Flavobacterium sp.*, isolada de profundidades de 1945 m degradou até 90% dos *n*-alcanos proveniente de uma amostra de querosene (Ajona e Vasanthi *et al*., 2021). Contudo, a degradação rápida e total da maioria dos contaminantes orgânicos ocorre em condições aeróbias, que é principalmente influenciada pela natureza e quantidade dos contaminantes presentes (Al-Hawash *et al*., 2018; Khalid *et al*., 2021).

Os hidrocarbonetos aromáticos são o segundo principal composto do diesel. A degradação desses compostos ocorre por meio de vias mais complexas em comparação com alcanos. O processo de degradação dos hidrocarbonetos aromáticos é mais complexo do que os hidrocarbonetos alifáticos devido as numerosas enzimas envolvidas (Imron *et al*., 2020). As enzimas microbianas, como a oxigenase, a desidrogenase e enzimas ligninolíticas são relatadas como capazes de degradar compostos aromáticos. Inicialmente, os PAHs sofrem ataque no anel aromático pelas dioxigenases. O metabolismo aeróbio e anaeróbico de compostos aromáticos foi relatado. No entanto, a biodegradação anaeróbia é considerada mais lenta do que a aeróbia, com menos mecanismos bioquímicos elucidados (Logeshwaran *et al*., 2018).

A maioria dos compostos aromáticos é formado pela união de vários anéis benzênicos. A primeira etapa da degradação aeróbica do benzeno envolve a união de dois átomos de oxigênio com um anel de benzeno pela enzima dioxigenase. Isso requer a presença de oxigênio molecular para iniciar a quebra enzimática dos anéis de hidrocarbonetos. A enzima serve para catalisar a união do oxigênio com a molécula do substrato, resultando na hidroxilação do benzeno e produzindo um composto menos estável, o cis-benzeno di-hidro-diol. Este composto será desidrogenado pela enzima cis-diol desidrogenase para produzir catecol. O próximo passo é quebrar o anel do catecol pela adição de moléculas de oxigênio pela enzima dioxigenase intra-diol (ortoclivagem) ou extra-diol (metaclivagem). A dioxigenase intra-diol (catecol 1,2 -dioxigenase) converte o catecol em ácido *cis, cis*-mucônico, enquanto a enzima extra-diol dioxigenase (catecol 2,3-dioxigenase) converte o catecol em semialdeído 2-hidroximucônico. Como o produto dessa reação é um

hidrocarboneto linear, os ácidos carboxílicos ou aldeídos produzidos por essa via passarão por um processo semelhante ao do hidrocarboneto alifático (Imron *et al*., 2020).

Na degradação anaeróbica os compostos aromáticos são inicialmente oxidados em fenóis / ácidos orgânicos e transformados em ácidos graxos (voláteis, de cadeia longa) que posteriormente são metabolizados em metano e dióxido de carbono (Logeshwaran *et al.,* 2018). Compostos aromáticos estruturalmente diversos são processados por bactérias por meio de vias de degradação periférica para formar benzoil coenzima A (benzoil-CoA), que não necessita de oxigênio para sofrer a quebra o anel aromático (Hirakawa *et al.,* 2015). O benzoil-CoA é um intermediário central no catabolismo anaeróbico da maioria dos compostos aromáticos (Leuthner e Heider, 2000).

2.4. PROTEÔMICA E BIORREMEDIAÇÃO

Estima-se que um grama de solo contenha até 18.000 genomas de procariotos, o que representa uma grande quantidade de informação a ser decifrada (Daniel, 2005). Porém, o estudo desses procariotos não é simples. Isso por que cerca de 95 a 99% dos microrganismos presentes no ambiente não são cultiváveis (Cowan *et al*., 2005). Sem contar que a maioria das espécies microbianas vivem em comunidades complexas nas quais elas têm que competir ou cooperar umas com as outras, e entender o funcionamento dessas comunidades microbianas é importante (Heyer *et al*., 2017).

A metaproteômica tem sido empregada no estudo dessas comunidades. Estudos metaproteômicos têm sido usados para caracterizar a composição taxonômica e funcional de comunidades microbianas complexas em seu ambiente específico (Heyer *et al*., 2017). A metaproteômica envolve a caracterização em grande escala de complexos enzimáticos inteiros, a partir de um conjunto de microrganismos coletados do ambiente natural em um determinado momento. As proteínas produzidas por essa microbiota podem ser caracterizadas por técnicas bastante difundidas em proteômica, como por exemplo, eletroforese bidimensional e espectrometria de massas (Wilmes e Bond, 2004 e Simon e Daniel, 2011). Essa abordagem pode ser usada para explorar de forma mais ampla o que o ambiente tem a oferecer, e levar a um crescente entendimento dos processos investigados, de forma a acessar de modo direto a potencial metabólico/catalítico das comunidades microbianas complexas (Wilmes e Bond, 2004 e Simon e Daniel, 2011). Além do que, a associação da metaproteômica com as novas tecnologias de sequenciamento de DNA, combinadas com o desenvolvimento de bioinformática e de bancos de

dados públicos, tem mudado ainda mais nossa percepção das comunidades microbianas (Ferrer *et al.,* 2009; Simon e Daniel, 2009).

A metaproteômica, por exemplo, já foi utilizada como ferramenta para caracterização de diversas comunidades complexas como: rumem de ovelha (Toyoda *et al*., 2009), saliva humana (Rudney *et al*., 2010), amostras marinhas (Sowell *et al*., 2009), fezes humanas (Verberkmoes *et al.,* 2009), matéria orgânica de lagos e solos de floresta (Schulze *et al*., 2005), solos e águas subterrâneas contaminadas (Benndorf *et al*., 2007). A metaproteômica pode investigar a composição proteica total em grande escala, identificar as proteínas verdadeiramente funcionais e adquirir evidências imediatas para analisar as mudanças nos processos metabólicos, e, portanto, também é amplamente utilizada em áreas ambientais (An *et al*., 2020).

Recentemente, metaproteômica e metabolômica, têm sido utilizadas para desdobrar vários aspectos da microbiologia ambiental e têm se mostrado como uma promessa no campo da biorremediação (Ghosal *et al*., 2016). Um estudo conduzido por Bozinovski *et al*., (2014) teve como objetivo verificar as relações funcionais e filogenéticas dentro de uma cultura que havia sido mantida por vários anos em laboratório com *m*-xileno como única fonte de carbono e energia. Em outro estudo um consórcio bacteriano composto de microrganismos provenientes de diferentes ambientes obtido após o enriquecimento na presença de uma mistura de 16 aditivos de hidrocarbonetos, gasolina e óleo diesel foi avaliado (Auffret *et al*., 2015). A metaproteômica também foi aplicada para entender os papéis da biodiversidade e de rearranjos genéticos e metabólicos em solo contaminado com hidrocarbonetos poliaromáticos (Guazzaroni *et al*., 2013).

Na biorremediação a proteômica pode ser empregada em várias abordagens, podendo ser aplicada de modo isolado ou combinada como outras "*ômicas*". Por exemplo, em *Burkholderia xenovorans* LB400 foi utilizada para estudar não apenas a degradação do *p*-cimeno e do *p*-cumato, mas também os mecanismos para lidar com o estresse oxidativo. As análises multiômicas diferenciais sugeriram que as dioxigenases desempenhavam papéis importantes na degradação desses compostos. Além disso, as análises proteômicas de LB400 cultivadas na presença de *p*-cimeno mostraram que numerosas proteínas de resposta ao estresse também foram superexpressas, como chaperonas, hidroperóxido redutase, proteínas de resistência e cobre oxidase, para reduzir o dobramento incorreto de proteínas e o estresse oxidativo, eliminando os peróxidos (Morya *et al.,* 2020).

Um método metaproteômico quantitativo, juntamente com a metagenômica, foi utilizado para identificar as proteínas funcionais envolvidas na quebra de *Direct Black G* (DBG), que é um corante azo tóxico. Os possíveis mecanismos moleculares co-metabólicos de degradação de DBG por genes candidatos e proteínas funcionais da microflora termofílica foram detectados. A combinação de metagenômica e metaproteômica para investigar a degradação do corante forneceu uma visão mais aprofundada sobre o mecanismo de degradação molecular de poluentes corantes pela microflora natural (An *et al*., 2020).

Não é fácil detectar e identificar tudo que é produzido por uma comunidade complexa de microrganismos em uma determinada condição ambiental. Isso por que os organismos se apresentam em distribuição desigual, níveis diferentes de expressão de proteínas e a grande variabilidade dos genomas presentes nessas comunidades microbianas (Schneider e Riedel, 2010). Ainda assim, a metaproteômica apresenta-se como uma importante ferramenta para identificação da diversidade genética e determinação da atividade microbiana relacionando sua função e impacto sobre os ecossistemas locais.

Diante de tudo que foi apresentado, e principalmente dos recentes impactos ambientais ocasionados por derramamento de óleo na Amazônia, fica evidente a necessidade de ações que visem reduzir os impactos ambientais ocasionado pela exploração e consumo de petróleo e seus derivados. Estudo de comunidades microbianas com potencial para degradação de hidrocarbonetos tem grande relevância nesse cenário. Informações relacionadas às vias catalíticas responsáveis pelos processos de degradação de petróleo e seus de derivados podem ser úteis para implementação de ações para recuperação de uma área afetada. A utilização de técnicas moleculares modernas, como a proteômica, pode ser empregada para a elucidação das vias metabólicas de degradação de compostos xenobióticas, e consequentemente pode servir para um entendimento mais aprofundada dos processos relacionados a biodegradação dos hidrocarbonetos presentes no petróleo.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Analisar o proteoma de um consórcio bacteriano com capacidade de degradação do diesel.

3.2. ESPECÍFICOS

a) Selecionar consórcios bacterianos com capacidade de biodegradar óleo diesel
b) Isolar cepas bacterianas presente nos consórcios
c) Caracterizar os aspectos relacionados a biodegradação do óleo diesel pelos consórcios bacterianos selecionados.
d) Avaliar a toxicidade dos consórcios bacterianos isolados
e) Analisar o proteoma do consórcio bacteriano mais promissor
f) Identificar proteínas e vias metabólicas envolvidas nos processos de biodegradação do óleo diesel.

4. METODOLOGIA

A metodologia empregada para execução desse trabalho foi organizada em quatro etapas distintas de conforme apresentado na figura 01.

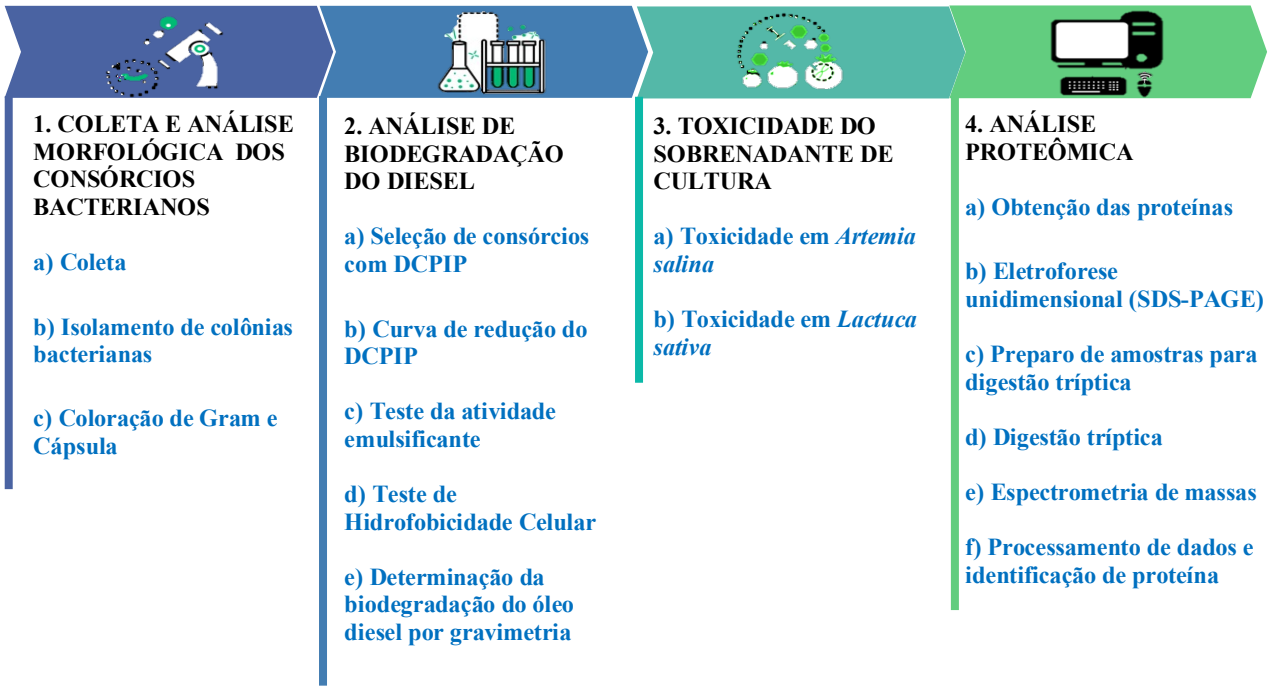


Figura 01. Fluxograma dos experimentos.

4.1. COLETA E ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS CONSÓRCIOS BACTERIANOS

4.1.1. Coleta

Para realização desse trabalho, foram coletadas 5 amostras de água contaminada com óleo nas proximidades do porto do Ceasa, Rio Negro, na Cidade de Manaus (figura 02) em cinco pontos distintos. A primeira amostra (consórcio A5) foi coletada no ano de 2015, em uma área do Rio Negro contendo os vestígios de óleo. As demais amostras (consórcios A1, A2, A3 e A4) foram coletadas em 2018 em 4 pontos distintos em uma área onde ocorreu de fato um vazamento de óleo combustível marítimo (OCM) no Rio Negro (IPAAM, 2018), enquanto ainda se observava uma grande quantidade de óleo na superfície água. Para cada ponto de coleta foram determinadas as coordenadas geográficas de acordo com o Sistema de Posicionamento Global (GPS) (tabela 01).



Figura 02. Área de coleta dos consórcios bacterianos. Porto do Ceasa, Rio Negro, Manaus-AM. Consórcios A1, A2, A3 e A4 coletados em 31 de agosto de 2018 (após derramamento de óleo na região). Consórcio A5 coletado em 15 de novembro de 2015.

Tabela 01. Pontos de coleta dos consórcios bacterianos. A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios coletados.

Consórcio	Coordenadas
A1	S 03º08´12.0 e W59º56´25.0
A2	S 03º08´07.0 e W 59º56´20.0
A3	S 03º08´06.0 e W 59º56´20.0
A4	S 03º08´04.0 e W 59º56´18.0
A5	S 03º08´09.0 e W 59º56´18.0.

Para cada amostra, o volume de 100 mL de água da superfície contaminada foi coletado em frascos Erlenmeyer (250 mL), que foram diretamente submetidas à aclimatação durante 24 h à 30º C e agitação constante de 150 rpm. Finalizada a fase de aclimatação, o volume de 1 mL da água coletada foi inoculado em meio Bushnell Haas (BH) (Bushnell e Haas, 1941) líquido, acrescido de 1 % de diesel (S10, adquirido em posto de gasolina, produzido pela Petrobras) como única fonte de carbono, e foi então incubado a 30º C (Das e Chandran, 2010), 150 rpm durante sete dias. Em seguida, 1 mL da cultura crescida foi inoculada em novo frasco contendo 100 mL de meio BH com 1 % de diesel e incubado nas mesmas condições por mais 7 dias. Esse procedimento foi repetido 5 vezes no total, para todas as amostras, visando a avaliação da estabilidade dos consórcios coletados.

Os consórcios foram então preservados em meio BH/Ágar (0,75 %) contendo diesel (1 %) e mantidas em temperatura ambiente.

4.1.2. Isolamento de colônias bacterianas

A partir das amostras preservadas, foi preparado um pré-inóculo (5 mL) de meio BH/diesel (1 %) e incubado a 30˚ C, a 150 rpm, por 48 h. Após esse período foram feitas diluições sucessivas das culturas na ordem de 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} e 10^{-6} e as três últimas foram inoculadas em placas de *petri* (150 mm) contendo meio LB/Ágar. As placas foram incubadas à 30˚ C por 48 h. Em seguida, colônias bacterianas foram selecionadas baseadas em sua morfologia. Elas foram transferidas simultaneamente para uma nova placa contendo LB/Ágar e um tubo de ensaio contendo 5 mL de meio BH/diesel (1%). Amostras que apresentaram crescimento simultâneo em BH/diesel (1%) e em meio LB foram selecionadas, e aquelas cujo crescimento foi observado apenas em meio LB, foram descartadas. Cada colônia selecionada foi então preservada em meio BH/Ágar (0,75 %) e diesel (1 %) e mantidas em temperatura ambiente.

4.1.3. Coloração de Gram e Cápsula

A partir dos preservados das colônias isoladas foi preparado um pré-inóculo (5 mL) de meio BH/diesel (1 %) e incubado a 30˚ C, a 150 rpm, por 48 h. Na etapa seguinte, 50 µL da cultura bacteriana foi inoculado em placas de *petri* (90 mm) contendo LB/ágar e incubados por 24 h à 30˚ C. Colônias isoladas foram então fixadas por calor em lâminas de vidro (76x26 mm), seguido de coloração com violeta genciana por aproximadamente 15 s e logo após, lavagem com água destilada. Em seguida as lâminas foram cobertas com lugol por 1 min, seguido de nova lavagem com água destilada. As lâminas foram então descoradas com acetona (50 % v/v), seguido por lavagem com água destilada. Para finalizar, foi feita coloração com fucsina por 30 s. As lâminas foram então lavadas com água destilada e secas à temperatura ambiente. A coloração para visualização de cápsula consistiu em misturar sobre a lâmina de vidro (76x26 mm) uma colônia isolada e 2 µL de água destilada, seguido de adição de 2 µL de tinta Nanquim. A mistura foi então espalhada com o auxílio de uma lamínula e deixada para secar, e em seguida coradas com fucsina por 2 min. As lâminas foram então visualizadas em microscópio óptico com aumento de 1000 vezes.

4.2. ANÁLISE DE BIODEGRADAÇÃO DO DIESEL

4.2.1. Condições de cultivo bacteriano

Pré-inóculos de cada consórcio foram preparados em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio BH/diesel (1% v/v) e cultivados por 24 h, a 30º C e 150 rpm. Após esse período, um volume dessas culturas bacterianas foi utilizado para inocular 100 mL meio BH/diesel (1% v/v) para atingir uma absorbância igual a 0,01 (λ=600nm). Os frascos foram então incubados por 7 dias a 30˚ C em agitação constante de 150 rpm. Após esse período todo o volume era centrifugado por 30 min a 4000 rpm e então o *pellet* de células e o sobrenadante da cultura eram utilizados imediatamente após a coleta para realização dos ensaios. Todos os cultivos foram sempre realizados em triplicata.

4.2.2. Seleção de consórcios com DCPIP

Para confirmar a capacidade dos consórcios bacterianos de utilizarem o diesel como fonte de carbono e energia empregou-se a técnica do indicador redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) (Hanson *et al.,* 1993). Para esse experimento, foram produzidos pré-inóculos em 5 mL de meio BH/diesel (1 % v/v) para cada consórcio; estes foram cultivamos a 30º C, 150 rpm, por 48 h. Em seguida, células foram transferidas para uma placa de microtitulação contendo volume final de 2 mL de meio BH/diesel (1 % v/v)/DCPIP (0,1 $g.L^{-1}$) em cada poço. Para cada consórcio, foi utilizado um volume suficiente para absorbância inicial de 0,01 (λ=600nm). Três controles também foram preparados: C1) BH + DCPIP; C2) BH + DCPIP + diesel; C3) BH + DCPIP + Pré-Inóculo. A placa foi então incubada a 30° C por 48 h sem agitação. O padrão de descoloração foi avaliado visualmente comparando a descoloração do indicador DCPIP obtida nos poços contendo os consórcios e o nos poços contendo os controles. Todos os ensaios e controles foram realizados em triplicata.

4.2.3. Curva de redução do DCPIP

Para determinar quais dentre os consórcios bacterianos apresentam melhores taxas de redução do indicador DCPIP, implicando consequentemente em uma melhor taxa de degradação dos hidrocarbonetos presentes no diesel, decidiu-se por quantificar o padrão de descoloração do indicador DCPIP. Para isso seguiu-se o protocolo descrito por Montagnolli *et al*. (2015), com algumas adaptações. Um pré-inóculo para cada consórcio foi obtido nas condições já descritas, seguida de uma diluição em meio BH para uma absorbância igual a 0,8 (λ=600nm). Em seguida, em um tubo de ensaio com tampa de rosca (15x150 mm), foram adicionados meio BH, diesel (1% v/v), 100 µL de pré-inóculo e DCPIP necessário para uma concentração final de 0,5 $g.L^{-1}$. Os controles foram preparados nas seguintes condições: C1 – BH + DCPIP; C2 – BH + DCPIP +

diesel; C3 – BH + DCPIP + Pré-Inóculo. Os sistemas foram preparados como mostrado na tabela 02 e incubadas a 30º C, 150 rpm, por 7 dias.

Para verificar os índices de descoloração do meio de cultura, medições sucessivas foram realizadas a cada 24 h, durante 7 dias. Um volume de 100 µL de amostra era diluído em 900 µL de meio BH estéril, e a absorbância do meio de cultura era medida em espectrofotômetro em comprimento de onda a 600 nm. Essas medições aconteceram a cada 24 h por 7 dias. O DCPIP foi considerado completamente reduzido quando a concentração diminuiu a 0,030 $g.L^{-1}$. De acordo com Montagnolli *et al*. (2015), valores inferiores a esta concentração não podem ser medidos por método espectrofotométrico.

Tabela 02. Composição dos ensaios para determinação da curva de redução do DCPIP.

Grupo	**DCPIP** [10g. L^{-1}]	**Meio BH**	**Inóculo** (OD = 0,8)	**Diesel**	**Volume Final**
Controle 01 (C1)	400 µL	7,6 mL	-	-	8 mL
Controle 02 (C2)	400 µL	7,52 mL	-	80 µL	8 mL
Controle 03 (C3)	400 µL	7,5 mL	100 µL	-	8 mL
Consórcio A1	400 µL	7,42 mL	100 µL	80 µL	8 mL
Consórcio A2	400 µL	7,42 mL	100 µL	80 µL	8 mL
Consórcio A3	400 µL	7,42 mL	100 µL	80 µL	8 mL
Consórcio A4	400 µL	7,42 mL	100 µL	80 µL	8 mL
Consórcio A5	400 µL	7,42 mL	100 µL	80 µL	8 mL

Para correlacionar a concentração de DCPIP não reduzido (cor azul) com a absorbância medida em espectrofotômetro (λ=600nm) foi necessário o estabelecimento de uma curva padrão, e com isso foi possível determinar as concentrações de DCPIP ao longo do experimento. Para tanto, três concentrações conhecidas do indicador DCPIP (0,5; 5 e 25 $mg.L^{-1}$) diluído em meio BH foram usadas para obtenção dos valores de absorbância de cada uma delas. A correlação entre os valores de absorbância obtidos, a equação da reta e a concentração de DCPIP pode ser observado no gráfico 01. Os valores de absorbância definidos na curva correspondem à média aritmética de triplicatas de cada concentração.

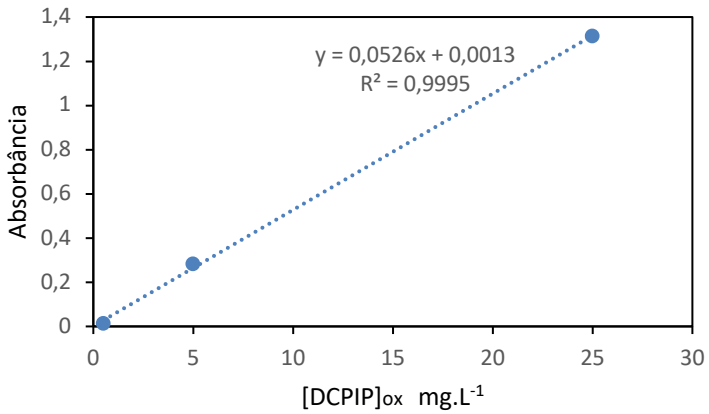


Gráfico 01: Curva padrão para determinação das concentrações de DCPIP. Concentrações de 0,5, 5 e 25mg.L^{-1} de DCPIP foram usadas. Absorbância medida em espectrofotômetro (λ=600nm).

4.2.4. Teste da atividade emulsificante

Para esse teste foram utilizados 4 mL de sobrenadante da cultura obtidos como descrito, que foram adicionados em um tubo de vidro de rosca (15 x 150 mm). Sobre este, foram adicionados 4 mL de solvente orgânico (hexano e xileno) ou diesel. A mistura foi vortexada vigorosamente por 5 min e deixada em repouso em temperatura ambiente. As medidas da altura da fase oleosa, aquosa e emulsificada foram medidas após 24 h para obtenção dos índices de emulsificação. O índice de emulsificação foi calculado usando a fórmula: E (%) = (He/Ht) x 100, (He - altura da fase emulsificada; Ht - altura total). As análises foram realizadas em triplicata experimental de três réplicas biológicas. Como controle negativo e positivo foram utilizados, respectivamente, meio de cultura BH estéril e dodecil sulfato de sódio 0,5% (SDS).

4.2.5. Teste de Hidrofobicidade Celular

Células recuperadas como descrito foram ressuspendidas em meio BH estéril para uma absorbância igual a 0,50 (λ=600nm) e 1,2 mL foi transferido para um tubo de ensaio (13x100 mm). Em seguida, foram adicionados 500 µL de solvente orgânico ou diesel sobre a suspensão e vortexada por 2 min. Os tubos foram deixados em repouso por 1 h em temperatura ambiente para a completa separação das fases e toda a fase aquosa foi recuperada com auxílio de uma pipeta *Pasteur*. A absorbância da fase aquosa recuperada foi novamente avaliada em espectrofotômetro (λ=600nm). A hidrofobicidade celular foi expressa como porcentagem de aderência celular no composto hidrofóbico, calculada usando a fórmula: BA(%) = (1 - (Abs/0,5)) x 100. (BA-aderência celular; Abs - absorbância da suspensão após a agitação; 0,5 é a absorbância inicial da suspensão).

Os solventes orgânicos utilizados foram hexano e xileno. As análises foram realizadas em triplicata experimental de três réplicas biológicas.

4.2.6. Determinação da biodegradação do óleo diesel por gravimetria

Análise gravimétrica foi utilizada para determinar o nível de biodegradação do óleo diesel, conforme indicado por Ayed *et al*., 2015. Após o processo de biodegradação (7 dias de cultivo), todo o sobrenadante de cultura (100 mL) foi centrifugado para separar a biomassa como descrito. Em seguida, o sobrenadante de cultura livre de células foi transferido para um funil de separação para extração do óleo diesel residual (não degradado). A extração foi feita com a adição de 100 mL de *n*-hexano ao funil de separação seguido de agitação por 15 s. O funil foi mantido em repouso por 5 min, e em seguida as fases orgânica e aquosa foram separadas. A fração orgânica foi deixada para evaporar em capela de exaustão em temperatura ambiente. Controles abióticos foram realizados nas mesmas condições e o óleo diesel residual recuperado foi usado para estimar as perdas por evaporação e manipulação. A porcentagem de óleo diesel biodegradado foi calculada pela fórmula: Biodegradação (%) = [(PCA – PC) /PD]x100. Onde: PCA: peso do diesel recuperado no controle abiótico; PC: peso do diesel recuperado das culturas bacterianas; PD: peso original do diesel introduzido. Todos os ensaios, incluindo os controles abióticos foram realizados em triplicata com três réplicas biológicas.

4.3. TOXICIDADE DO SOBRENADANTE DE CULTURA

A toxicidade de hidrocarbonetos residuais ou dos subprodutos de degradação microbiana presentes nas amostras dos diferentes consórcios foram testados a fim de se obter a Dose Letal 50 % em 24 h (DL_{50} – 24 h), usando *A. salina* (Maddela *et al*., 2017; Rocha e Silva *et al*., 2015) e também em ensaio envolvendo a germinação de sementes de alface (*L. sativa*) (adaptado de Montagnolli *et al*., 2015). O cultivo dos consórcios bacterianos para obtenção dos sobrenadantes de cultura foi feito nas condições e período já descritos (7 dias, 30º C, 150 rpm).

4.3.1. Toxicidade em *Artemia salina*

Os sobrenadantes das culturas bacterianas separados por centrifugação (30 min, 400 rpm, 4º C) foram ainda filtrados em papel *Whatman* Nº 1. Logo após, as amostras foram preparadas em 10 diluições seriais (1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16: 1:32; 1:64; 1:128; 1:256; 1:512) em solução salina

estéril (2 % NaCl, pH 8,5). Alíquotas (2 mL) de cada diluição foram adicionados nos poços de uma placa de poliestireno estéril (placa para cultura de células – 24 Poços, *Kasvi*), e 10 náuplios de *A. salina* foram adicionados aos poços em seguida. As placas foram então incubadas a 30° C por 24 h. Finalmente, náuplios mortos foram contados e foi utilizado para determinar as concentrações DL_{50} – 24 h para os sobrenadantes das culturas bacterianas. Solução salina estéril (2 % NaCl, pH 8,5) foi utilizada como controle negativo. Cada experimento foi realizado em triplicata e três réplicas biológicas. A toxicidade do meio BH sem diesel (CBH) e com diesel (CD) também foram testadas, e, para tanto, controles abióticos foram preparados nas mesmas condições de cultivo dos demais ensaios.

4.3.2. Toxicidade em *Lactuca sativa*

O ensaio foi realizado em placas de *petri* esterilizadas (90 mm) contendo papel filtro *Whatman* Nº 1. Foram adicionados 4,0 mL de sobrenadante de cultura para embeber o papel filtro. As sementes foram então adicionadas às placas de Petri sobre o papel embebido. Um total de 10 sementes de alface foram colocadas em cada placa, sendo os experimentos realizados em triplicatas para cada amostra testada. O controle negativo de toxicidade, usando água destilada, foi realizado nas mesmas condições. Após 7 dias de incubação no escuro, a 27º C, a germinação das sementes foi avaliada e o índice de germinação calculado utilizando a fórmula: Índice de Germinação (%) = (Número de sementes germinadas no extrato / Número de sementes germinadas no controle) x 100 (Rocha e Silva *et al*., 2014). As sementes foram compradas todas do mesmo lote/fornecedor. A toxicidade do meio BH com diesel também foi testada (meio BH estéril + diesel [1 % v/v]).

4.4. ANÁLISE PROTEÔMICA

Todos os ensaios anteriores serviram como parâmetros para seleção do consórcio mais promissor para biorremediação, de modo que as etapas seguintes de identificação de proteínas de amostras intra e extracelular foram realizadas apenas para esse único consórcio selecionado.

4.4.1. Obtenção das proteínas intracelulares

A partir de um pré-inóculo, três cultivos do consórcio foram feitos em 100 mL de meio mínimo BH com diesel 1% como fonte de carbono e as células coletadas por centrifugação (4000 rpm, 30min, 4º C) após 7 dias de cultivo. O *pellet* das células foi lavado com 3 mL de tampão Tris-

HCl (50 mM; pH 7,5) e centrifugado novamente (4000 rpm, a 4° C, por 15 min). Em seguida, 1 mL de tampão de lise (7M uréia, 2M tiouréia e 4 % CHAPS, 50 mM DTT) acrescido de 1 % de solução tampão de anfólitos (IPG, pH 3-11) e 1 mM inibidor de serino e cisteíno-proteases (PMSF – fluoreto de fenilmetilsulfonila), foram adicionados ao sedimento. As células foram lisadas em banho de gelo utilizando disruptor ultrassônico (*Fisher 100 Sonic Dismembrator*) com três pulsos de 30 s na potência 1. As amostras foram incubadas no gelo por 1 h e centrifugadas (30 min, a 12000 rpm, a 4° C) em seguida. O sobrenadante foi distribuído em volumes de 100 µL em microtubos de 1,5 mL e adicionados 5V de solução gelada de clorofórmio/metanol (1:4). Em seguida, os tubos foram agitados em vórtice por 30 s, centrifugados (15 min, a 12000 rpm, a 4° C) e o sobrenadante descartado. O sedimento foi ressuspendido em 1 mL de metanol e centrifugado (15 min, a 12000 rpm, a 4° C) e o sobrenadante descartado novamente. Esse procedimento de lavagem com metanol foi repetido mais duas vezes. O sedimento foi seco à temperatura ambiente e estocado a -20° C. O extrato seco foi solubilizado em 300 µL de ureia (3M) e quantificado utilizado o *kit* BCA (*Protein Assay Reagent, Pierce*) seguindo-se as recomendações do fabricante.

4.4.2. Obtenção de proteínas extracelulares

A combinação da precipitação ácida e a técnica de extração por solvente foi empregada para extrair proteínas dos respectivos sobrenadantes de cultura de cada consórcio bacteriano livres de células (Sharma *et al*., 2018). As extrações foram feitas em triplicata para o consórcio cultivado como descrito no item 4.2.1. As células bacterianas foram removidas do meio contendo por centrifugação (10.000 rpm, 30 min a 4° C). O sobrenadante foi submetido a precipitação ácida por adição de 6N HCl até atingir um pH final de 2,0 e depois incubados a 4° C durante a noite. Os precipitados recolhidos por centrifugação (10.000 rpm durante 30 min a 4° C) foram dissolvidos em metanol puro. As frações não dissolvidas foram separadas por filtração (membrana 0,22 µm). Por fim, as proteínas foram recuperados por evaporação dos extratos metanólicos sob vácuo, utilizando evaporador rotativo. O extrato seco foi solubilizado em 300 µL de ureia (3M) e quantificado utilizado o *kit* BCA (*Protein Assay Reagent, Pierce*) seguindo-se as recomendações do fabricante.

4.4.3. Eletroforese unidimensional (SDS-PAGE)

Um tubo com *pellet* de proteínas (intracelular e extracelular) foi solubilizado em 100 µL de tampão desnaturante (Tris-HCl 0,2 M pH 6,8; 4 % (v/v) SDS; 4 % (v/v) β-mercaptoetanol; 20

% (v/v) glicerol; 0,1 % (p/v) azul de bromofenol) e colocados por 5 min a 100° C em banho maria. Após este procedimento, 15 µg de proteínas totais foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (12 %), utilizando tampão Tris-Glicina 1x (pH 8,3; Tris 0,025 M; Glicina 0,192 M, SDS 0,1 %), sob uma tensão de 200V e corrente constante de 50 mA por gel no sistema *Mini-PROTEAN Electrophoresis System* – (*Bio-Rad*). Foram analisadas proteínas intra e extracelular em triplicata. O tempo de eletroforese foi de aproximadamente 10 min, apenas para eliminação de possíveis contaminantes que poderiam interferir na espectrometria de massas. Em seguida as proteínas foram coradas *overnight* com azul de Comassie R-350, e descoradas em seguida com solução descorante (etanol 25 % e ácido acético 8 %) e água deionizada.

4.4.4. Preparo de amostras para digestão tríptica

A porção do gel contendo o *pool* de proteínas totais foi recortada manualmente do gel e colocadas em microtubos *eppendorf* (1,5 mL). Proteínas intracelulares e extracelulares foram mantidas separadas para análises, assim como as triplicatas de cada amostra. Aos tubos contendo as bandas dos géis foram adicionados 500 µL de solução descorante (50 % (v/v) de metanol; 2,5 % (v/v) de ácido acético) e incubados por 2 h a temperatura ambiente. Este procedimento foi repetido até a completa descoloração dos géis.

Após a descoloração, as bandas recortadas do gel foram então submetidas a duas etapas de desidratação com 200 µL de acetonitrila por 5 min cada. Após evaporação da acetonitrila (3 a 5 min), os géis foram reduzidos com 30 µL de solução de DTT (Ditiotreitol 10 mM; bicarbonato de amônio 100 mM) por 30 min. A solução de DTT foi então descartada e as amostras alquiladas com 30 µL de solução IAA (Iodoacetamida 50 mM; bicarbonato de amônio 100 mM) por 30 min em câmara escura a temperatura ambiente. Após a remoção da solução de IAA as amostras foram lavadas com 100 µL de bicarbonato de amônio (100 mM) e incubadas por 10 min. Após o descarte o gel foi desidratado com 200 µL de acetonitrila durante 5 min e então reidratado com 200 µL de bicarbonato de amônio (100 mM) por 10 min. Duas desidratações com acetonitrila aconteceram novamente, seguido de evaporação da acetonitrila residual em temperatura ambiente.

4.4.5. Digestão tríptica

Para a digestão proteolítica *in gel*, as bandas dos géis foram reidratadas em 50 µL de solução de tripsina (Promega) [tripsina (20 ng/µL); bicarbonato de amônio (50 mM)] durante 30 min em

banho de gelo. O excesso da solução de tripsina foi descartado seguido de adição de 20 µL de bicarbonato de amônio (50 mM). As amostras foram incubadas a 37° C por 16 h. A extração dos peptídeos foi realizada adicionando-se 20 µL de solução de extração I (ácido fórmico 5 %) mantido por 5 min a temperatura ambiente. Todo o volume foi recuperado para um novo tubo e ao gel foram adicionados 15 µL de solução de extração II (ácido fórmico 5 %; acetonitrila 50 %) sendo incubado por 10 min a temperatura ambiente. Novamente houve a recuperação de todo o volume e o último passo repetido mais uma vez. As amostras foram então liofilizadas e armazenadas a -20º C até sua aplicação no espectrômetro de massas.

4.4.6. Espectrometria de massas

Os experimentos de espectrometria de massas foram realizados pela *Proteomics platform of the CHU de Quebec Research Center*, em Quebec no Canadá. As amostras foram analisadas por nano LC/MS/MS usando um sistema de cromatografia *Dionex UltiMate 3000 nanoRSLC* (*Thermo Fisher Scientific*) conectado a um espectrômetro de massas *Orbitrap Fusion* (*Thermo Fisher Scientific*, San Jose, CA, EUA). Os peptídeos foram presos a 20 µL/min em solvente de carga (2 % de acetonitrila, 0,05 % de TFA) em uma pré-coluna de cartucho de *pepmap* C18 de 5 mm x 300 µm (*Thermo Fisher Scientific / Dionex Softron GmbH*, Germering, Alemanha) durante 5 min. Em seguida, a pré-coluna foi ligada com uma coluna de separação *Pepmap Acclaim* (*ThermoFisher*, 50 cm x 75 µm de diâmetro interno) e os peptídeos foram eluídos com um gradiente linear de 5-40 % de solvente B (80 % de acetonitrila, 0,1 % de ácido fórmico) em 200 min, a 300 nL/min. Os espectros de massas foram adquiridos usando um modo de aquisição dependente de dados com o *software Thermo XCalibur* (*versão 4.3.73.11*).

4.4.7. Buscas em bancos de dados de proteína

Os arquivos *MGF* da lista de picos foram criados utilizando o *software Proteome Discoverer 2.3* (*Thermo*). Esses arquivos foram então analisados usando o *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). O *Mascot* foi configurado para pesquisar um banco de dados de contaminantes e um banco de dados de proteínas, e assumindo a tripsina como enzima de digestão proteolítica. A tolerância de massa de íon de fragmento foi de 0,60 Da e a tolerância de íon parental foi de 10 ppm. Como modificação fixa foi especificado a carbamidometilação da cisteína e, a

desamidação de asparagina e glutamina e oxidação de metionina foram especificadas no *Mascot* como modificações variáveis. E ainda foi definido que duas clivagens perdidas seriam permitidas.

Tanto as proteínas intracelulares do consórcio A3 (A3In) quanto as extracelulares do consórcio A3 (A3Ex) foram submetidas às análises para identificação de proteínas do consórcio A3. Como não havia definição prévia de quais eram as espécies que compunham o consórcio A3, a busca inicial se deu no banco de dados *Uniprot* (*Bacteria*, com 334.584 proteínas anotadas), para obtenção de proteínas ribossomais. Foram identificadas 143 proteínas ribossomais. Para verificação de quais seriam as três espécies com maior prevalência de proteínas ribossomais foram realizadas duas análises. Na primeira análise considerou-se a distribuição dessas proteínas ribossomais por gênero, ou seja, todas as proteínas de cada gênero foram contabilizadas e considerou-se essa quantidade como sendo o 100% de proteínas para o gênero. Em seguida foi avaliada a distribuição dessas proteínas entre as espécies de cada gênero. As três espécies com maior prevalência de proteínas ribossomais identificadas foram: *A. baumannii*, *B. cenocepacia* e *C. taiwanensis*.

Com a definição das espécies, os dados brutos do sequenciamento de proteínas de A3In e A3Ex foram utilizados novamente para novas buscas em banco de dados, agora nos bancos de cada espécie. As buscas foram realizadas nos bancos "*A. baumannii*" (3.263 entradas), "*B. cenocepacia*" (6.040 entradas) e "*C. taiwanensis"* (6.614 entradas) todos do *Uniprot*.

4.4.8. Critérios para identificação de proteínas

O *software Scaffold* (versão 4.8.4*, Proteome Software Inc., Portland, OR*) foi usado para validar as identificações de peptídeos e proteínas baseadas em MS/MS. Uma taxa de descoberta falsa (FDR – *False Discovery Rate*) de 1 % foi utilizada para peptídeo e proteína. As proteínas que continham peptídeos semelhantes e não podiam ser diferenciadas sozinhas com base na análise de MS/MS foram agrupadas para satisfazer os princípios de parcimônia.

4.4.9. Construção dos mapas metabólicos

Reunimos todas as informações relacionadas às proteínas encontradas para as espécies do consórcio A3 e montamos 05 mapas metabólicos no *KEGG*. Foram utilizadas 510 proteínas de *A. baumannii* para determinação do mapa de vias metabólicas (código no KEEG: abc01100) para essa espécie. O mesmo procedimento foi adotado para a determinação de mapa semelhante (código no

KEEG: bmj01100) para *B. cenocepacia* com suas 496 proteínas encontradas, e do mapa (código no KEEG: cti01100) de *C. taiwanensis* com 290 proteínas.

Além desses três mapas, dois mapas de sinergismo entre as espécies foram gerados. Para o primeiro, restringimos a abrangência das vias metabólicas para englobar apenas o "metabolismo microbiano em diversos ambientes" (código no KEEG: map01120). Um mapa mais abrangente das vias metabólicas combinadas dos três microrganismos (código no KEEG: map01100), que chamamos de mapa metabólico do consórcio A3, foi determinado pela combinação de 890 proteínas identificadas. Para obtenção desses dois últimos mapas tivemos que reunir informação sobre a homologia de todas as proteínas encontradas e analisá-las individualmente para obtenção de um código único em que o *KEGG* agrupa proteínas ortólogas, pois o sistema de entrada de dados para geração de mapas metabólicos em que inclui mais de uma espécie é baseado nesse tipo de código (K0xxx). De posse dessas informações, conseguimos gerar os mapas metabólicos de sinergismo do consórcio A3.

4.4.10. Análise da abundância de proteínas associadas a biorremediação

Os peptídeos identificados para cada uma das proteínas envolvidas na degradação de xenobióticos foram usados para determinação de um mapa da abundância de proteínas presentes nas amostras intracelular e extracelular quando analisadas por espécies. Utilizou-se o método de contagem espectral total (*spectral count*), contando o número total de espectros analisados associados a uma única proteína (Luyten *et al*., 2020). Foi considerado a somatória de todos os *spectral count* presentes nas três amostras como sendo a abundância de determinada proteína no consórcio. Em princípio, o número de espectros *in tandem* correspondentes a peptídeos relacionados a uma determinada proteína está positivamente associado à abundância de uma proteína (Liu *et al.,* 2004). Em técnicas de contagem espectral, espectros brutos ou normalizados são usados como substitutos para a abundância de proteínas. Os métodos de contagem espectral têm sido moderadamente bem-sucedidos na quantificação da abundância de proteínas e na identificação de proteínas significativas em vários ambientes (Dicker *et al*., 2010). Os nossos dados foram normalizados empregando-se o logaritmo de base 10 nas médias de *spectral count* - [*Log (µSC)*] - observados paras cada proteína associada aos xenobióticos. Nos casos na qual a contagem espectral foi zero atribuiu-se valor 1, para resolver a indefinição *log (0)* (Dicker *et al*., 2010). A construção do *hitmap* foi feita no *software Microsoft Excel* (versão 16.16.27).

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O *software Minitab Express™* (versão 1.5.2) foi utilizado para análises estatísticas nos experimentos relacionados com a biorremediação. Análise de variância (ANOVA) foi realizada para verificar diferenças significativas entre os tratamentos. Comparações por pares foram feitas usando o método de *Tukey* com 95 % de confiança, e o teste para significância entre as médias foi inferido em $P < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA DOS CONSÓRCIOS BACTERIANOS

A partir dos cinco consórcios coletados, foram isoladas colônias bacterianas com aspectos morfológicos distintos, sugerindo a ocorrência de diferentes espécies. Ao todo foram isoladas dezoito colônias bacterianas, sendo: três do consórcio A1, quatro do consórcio A2, três do consórcio A3, duas do consórcio A4 e seis do consórcio A5 (tabela 03).

Tabela 03. Características morfológicas de colônias isoladas dos consórcios bacterianos

Ord.	Consórcio	Amostra	Gram	Forma	Arranjo	Cápsula
1	A1	A12	-	Bacilo	Individual	Sim
2		A13	-	Bacilo	Individual	Sim
3		A16	-	Bacilo	Individual	Sim
4	A2	A21	-	Bacilo	Individual	Sim
5		A25	+	Coco	Diplococo	Sim
6		A27	-	Bacilo	Individual	Sim
7		A211	-	Bacilo	Individual	Sim
8	A3	A313	-	Coco	Estreptococo	Sim
9		A314	-	Bacilo	Individual	Sim
10		A316	-	Bacilo	Individual	Sim
11	A4	A418	-	Bacilo	Individual	Sim
12		A419	-	Cocobacilo	Diplococo	Sim
13	A5	A509	+	Bacilo	Individual	Sim
14		A510	-	Bacilo	Individual	Sim
15		A538	-	Bacilo	Individual	Sim
16		A520	+	Bacilo	Individual	Sim
17		A522	-	Bacilo	Individual	Sim
18		A549	+	Coco	Diplococo	Sim

Aspectos importantes quanto a forma da célula, o arranjo estrutural, presença ou ausência de cápsula e a coloração em Gram estão indicados na tabela 03. Em sua grande maioria, as amostras se apresentam na forma de bacilo (14 cepas). As outras quatro amostras eram coco (3 cepas) e cocobacilo (1 cepa) (A25, A313, A549 e A419 respectivamente). Quanto à coloração, a grande maioria foi classificada como Gram negativa, sendo apenas 04 amostras identificadas como Gram

positivas. Em relação a formação de arranjos bacterianos, foi observado que as amostra A25, A419 e A549 se apresentam na forma de diplococos, enquanto a amostra A313 como estreptococo. As demais amostras não formam arranjos, ou seja, foram visualizadas de forma individual. Todas as amostras foram identificadas positivamente quanto a presença de cápsula.

A presença de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos em todos os locais de coleta indica que os ecossistemas aquáticos escolhidos contêm populações bacterianas que podem metabolizar componentes do petróleo ou compostos relacionados. No caso das nossas amostras, coletadas em ambiente poluído com derivados de petróleo, isso acaba se tornando uma vantagem em relação as espécies que nunca foram expostas a hidrocarbonetos. As chances de se isolar um microrganismo com potencial para biorremediação é bem maior nesse caso. A presença de bactérias em locais onde houve um derramamento de óleo é um indicador importante para avaliar o potencial de degradação por bactérias em áreas contaminadas com óleo bem como avaliar o nível de poluição por óleo ocorrido (Varjani *et al*., 2013).

A contagem de bactérias presentes em amostras coletadas varia bastante. Por exemplo, Marchand *et al.* (2017) trabalhou com 781 cepas bacterianas e 279 cepas fúngicas que foram isoladas de solos usando meios padrão e seletivos. Desses isolados, 95 cepas bacterianas e 160 fúngicas foram selecionadas por uma triagem de verificação da capacidade desses microrganismos degradarem hidrocarbonetos. Já Souza *et al*. (2016) coletou amostras de água em três locais no porto às margens do lago Guaíba (Porto Alegre, RS, Brasil), tendo conseguido isolar apenas uma espécie bacteriana com capacidade de degradar hidrocarbonetos. A natureza do material coletado pode apresentar uma explicação para essas diferenças em relação à quantidade de espécies isoladas. De acordo com Youssef *et al*. (2010) a contagem bacteriana em sedimento é maior do que a contagem na água nos mesmos locais de coleta, e a explicação para tanto é devido ao acúmulo de bactérias que tendem a se prender à superfície do sedimento. Os consórcios bacterianos isolados em águas poluídas por óleo combustível do Rio Negro, poderão contribuir para a proposição de alternativas para recuperação áreas impactadas.

5.2. ANÁLISE DE BIODEGRADAÇÃO DO DIESEL

5.2.1. Seleção de consórcios e curva de redução de DCPIP

O resultado de seleção dos consórcios utilizando DCPIP pode ser observado na figura 03, em que está representado também a curva de redução do indicador redox utilizado. Todos os

consórcios bacterianos testados apresentaram um padrão de descoloração do meio de cultura (figura 03B), embora em intensidades diferentes. Comparando visualmente os resultados é possível notar que o consórcio A3 apresenta um padrão de descoloração (redução de DCPIP) mais elevado que os demais. Não foi verificado visualmente diferenças entre os consórcios A2 e A4, porém existe uma leve diferença na descoloração apresentada em A5 se comparada com A1. Ainda observado a figura 03B não é possível fazer distinção na descoloração apresentada nos controles utilizados, bem como também não é possível diferenciar esses controles, após 48h de cultivo, do seu correspondente na placa inicial (0h de cultivo).

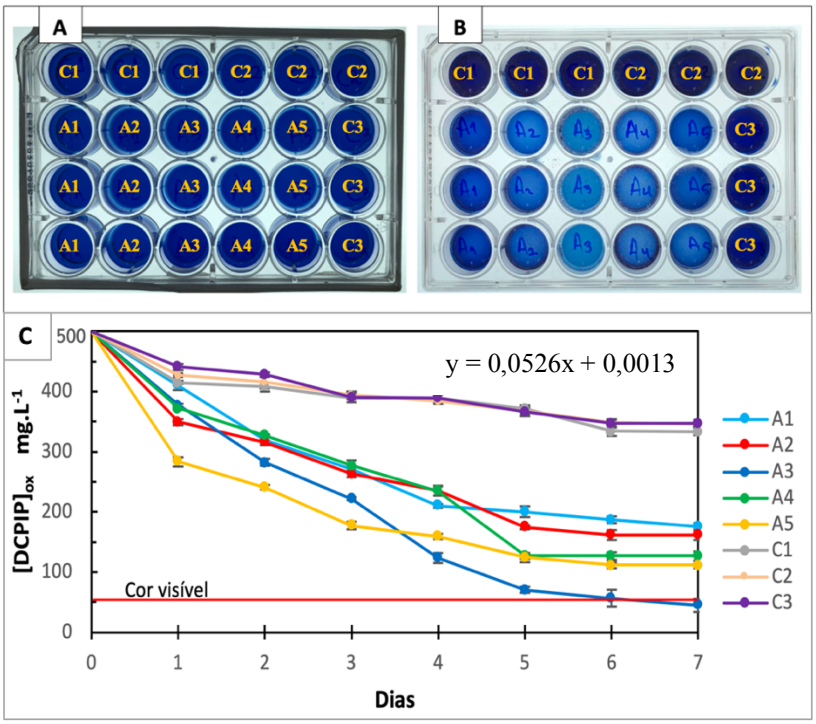


Figura 03: Seleção de consórcios com indicador redox DCPIP. A – Ensaio em escala piloto (0h); **B** – Ensaio em escala piloto (48h). **C** - Curva de redução de DCPIP. C1 – Controle 1 (BH + DCPIP); C2 – Controle 2 (BH + DCPIP + Diesel); C3 – Controle 3 (BH + DCPIP + Pré-Inóculo). A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios cultivados em BH + Diesel + DCPIP.

A curva de redução do indicador redox DCPIP (figura 3C) mostra diferenças acentuadas nos padrões de descoloração apresentados pelos consórcios e ainda entre os consórcios e os controles. Os valores mostrados indicam que os controles apresentam uma descoloração natural ao longo do tempo de experimento. Em média 158,2 $mg.L^{-1}$ do indicador redox foi reduzido naturalmente nas três condições de controle. Isso pode ter relação com a presença de íons H^+ provenientes do meio de cultura (sem microrganismos) ou do diesel, que são facilmente

incorporados pelo indicador redox (Isola *et al*., 2013). A desintegração natural da estrutura química DCPIP ao longo do tempo também pode justificar a redução observada (Montagnolli *et al*., 2015). No entanto, essa pequena instabilidade molecular foi adequada para o intervalo de tempo do experimento.

Fazendo uma comparação numérica, por exemplo, a descoloração apresentada pelo consórcio que foi mais eficiente (A3 – 455,7 $mg.L^{-1}$) em reduzir o DCPIP é quase o triplo daquela descoloração natural que foi observada nos controles (μ=158,2$mg.L^{-1}$). Isso indica, portanto, a capacidade desses microrganismos em crescer no meio de cultivo contendo diesel, e consequentemente degradarem os hidrocarbonetos ali presentes, convertendo-os em fonte de carbono e energia utilizável.

Assim como foi observado no teste descrito anteriormente (figura 3B), nesse teste também o melhor resultado dentre os consórcios avaliados foi observado para A3, sendo esse o único consórcio em que a descoloração avançou abaixo da faixa visível da cor azul (descoloriu totalmente). Isso se deu a partir do 6º dia. Os demais consórcios, mesmo apresentando significativa descoloração do meio de cultura, não conseguiram descolorir totalmente o DCPIP no intervalo de realização do experimento. Analisando os dados da curva é possível observar também uma leve tendência de estabilização (pouca variação) no padrão de descoloração do meio de cultura de A1 a partir do 4º dia de experimento e de A2, A4 e A5 a partir do 5º dia. Uma maior tendência de descoloração do meio de cultura é observada em A5 nas primeiras 24 h de experimento, o que pode indicar uma melhor adaptação dos microrganismos presentes nesse consórcio para utilizarem o diesel como fonte de carbono e energia nessas horas iniciais de experimentação.

Na tabela 04 são apresentadas as diferenças estatísticas para as médias de concentrações de DCPIP que foi reduzida ao final dos 7 dias de experimento. A análise de variância e teste *Tukey* indicaram diferenças significativas (α=0,05) entre os tratamentos. Essas diferenças estatísticas foram observadas entre alguns consórcios, e ainda entre consórcios e controles. O teste indicou que A3 diferiu de todos os demais consórcios, sendo indicado estatisticamente como o melhor consórcio capaz de reduzir DCPIP ao longo de sete dias. Não houve diferença significativa entre A4 e A5, assim como A1 e A2. Em relação aos controles empregados no teste, não houve diferença estatística significativa observada entre eles, o que reforça a hipótese tese inicial de perda natural de coloração ao longo do experimento. Estes dados corroboram os resultados obtidos para a triagem

dos consórcios na presença de DCPIP (figura 03B), na qual o consórcio A3 apresentou a maior descoloração do indicador colorimétrico.

Tabela 04. Concentração média de DCPI reduzido pelos consórcios. A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios cultivados em BH + diesel + DCPIP. C1 – Controle 1 (BH + DCPIP); C2 – Controle 2 (BH + DCPIP + diesel); C3 – Controle 3 (BH + DCPIP + Pré-Inóculo). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

	Redução de DCPIP	
Amostra	**Média (mg.L^{-1})**	**DP**
A1	323,8^{C}	±4,782
A2	338,4^{C}	±8,282
A3	455,7^{A}	±10,97
A4	373,3^{B}	±7,251
A5	388,5^{B}	±4,782
C1	166,7^{D}	±6,108
C2	154,6^{D}	±2,902
C3	153,4^{D}	±6,108

Na tabela 05 são mostrados os resultados da seleção com DCPIP e associados com o ambiente onde o material foi coletado. Baseado no padrão de descoloração adotou-se (+++) para descoloração mais intensa do meio de cultura e (+) para o menos intenso, baseado na estatística empregada (tabela 04). O consórcio A3, como já mencionado, foi aquele que teve a maior capacidade em redução do DCPIP do meio de cultura, sendo este coletado de em área onde houve um derramamento de óleo, seguido por A2 e A4, ambos também coletados de área onde houve derramamento de óleo. Os consórcios A5 e A1 foram os que apresentaram os piores resultados quando comparados aos demais, com a diferença que A5 foi coletado de área com indício de contaminação por óleo, onde não era possível precisar com exatidão a fonte e nem o tipo de óleo.

O tempo necessário para a descoloração do DCPIP azul (oxidado) para a forma incolor (reduzida) é um dos parâmetros adotados para seleção das cepas bacterianas. Aquelas que conseguem descolorir o DCPIP mais rapidamente, são escolhidas como as melhores degradadoras de óleo (Roy *et al.*, 2002), e, portanto, são aquelas aptas para continuação dos estudos envolvendo a degradação de hidrocarbonetos.

Tabela 05. Pontos de coleta dos consórcios bacterianos e seleção com DCPIP. A1, A2, A3, A4, A5 – Respectivos consórcios cultivados em BH + Diesel + DCPIP, a 30˚ C, sem agitação, por 48. Descoloração do DCPIP variando de mais intenso (+++) ao menos intenso (+), observado visualmente.

Consórcio	Ambiente	Seleção com DCPIP	Ano da coleta
A1	Derramamento de óleo	+	2018
A2	Derramamento de óleo	+	2018
A3	Derramamento de óleo	+++	2018
A4	Derramamento de óleo	++	2018
A5	Indício de contaminação com óleo	++	2015

Embora em intensidades diferente, todos os consórcios foram capazes de descolorir o meio de cultura. Isso indica que os poluentes contidos nos locais de coleta atuaram como um mecanismo de seleção, favorecendo o isolamento de microrganismos capazes de degradar hidrocarbonetos, corroborando com Horel e Schiewer (2014). A presença do diesel como fonte única de carbono selecionou apenas aqueles microrganismos capazes de crescer na presença do xenobiótico.

Eliminar vários poluentes do ambiente natural é necessário para melhorar o desenvolvimento sustentável do ecossistema e reduzir o impacto ecológico. Os microrganismos usam sua extensa atividade catabólica para degradar ou converter esse composto em substâncias inofensivas, desempenhando um papel importante na remoção de poluentes (Balogun *et al*., 2015). A remediação microbiana de locais contaminados por hidrocarbonetos é realizada com a ajuda de um grupo diverso de microrganismos, particularmente as bactérias endógenas presentes no solo (Sebiomo *et al*., 2010). A primeira linha de defesa contra a poluição por óleo no meio ambiente é a população microbiana (Youssef *et al*., 2010). Vários estudos têm aplicado com sucesso DCPIP para triagem de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos (Roy *et al.* (2002); Habib *et al*. (2017); Marchand *et al*. (2017). Como demonstrado, os consórcios isolados de água do Rio Negro são promissores para investigação quanto ao potencial no uso de processos de biorremediação.

5.2.2. Teste da atividade emulsificante

O aspecto da emulsão formada pelo consórcio A3 pode ser visualizado na figura 04. A emulsão em xileno, tem um aspecto mais denso e, está mais compactada, do que aquelas observadas em hexano e diesel. Estas últimas, apresentam um aspecto mais disperso ao longo da fase orgânica

(porção superior), chegando em alguns caso a ocupar toda a fase orgânica, porém, sem emulsionar totalmente todo o volume do solvente.

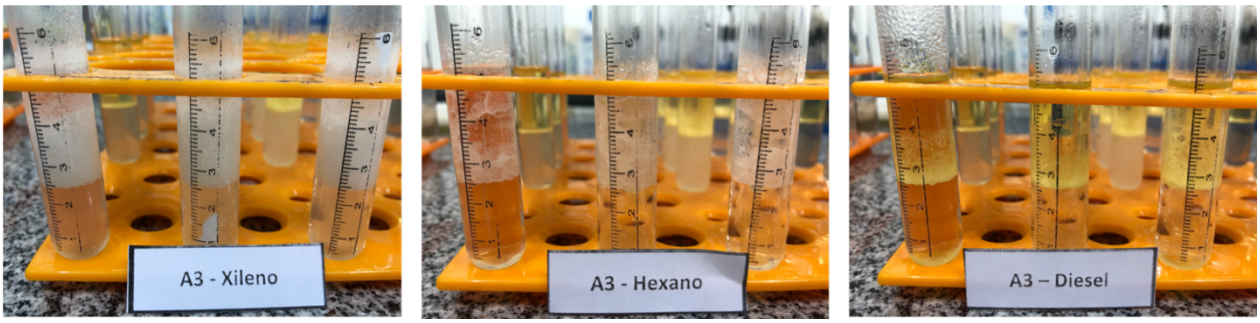


Figura 04: **Emulsão formada pelo consórcio A3.** Sobrenadante de cultura e solvente orgânico (xileno e hexano) ou diesel (1:1) vortexado por 120 s, deixado em repouso por 24 h em temperatura ambiente.

Os resultados apresentados no gráfico 02 demonstram que o SDS foi capaz de emulsionar totalmente xileno e hexano, assim como o diesel. Em relação ao controle negativo, como já era esperado, não foram verificados quaisquer índices de emulsificação nos solventes e combustível testados. Os índices de emulsificação apresentados pelos consórcios variaram de acordo com o solvente testado, assim como também foram observadas diferenças para o mesmo solvente tratado com consórcios diferentes.

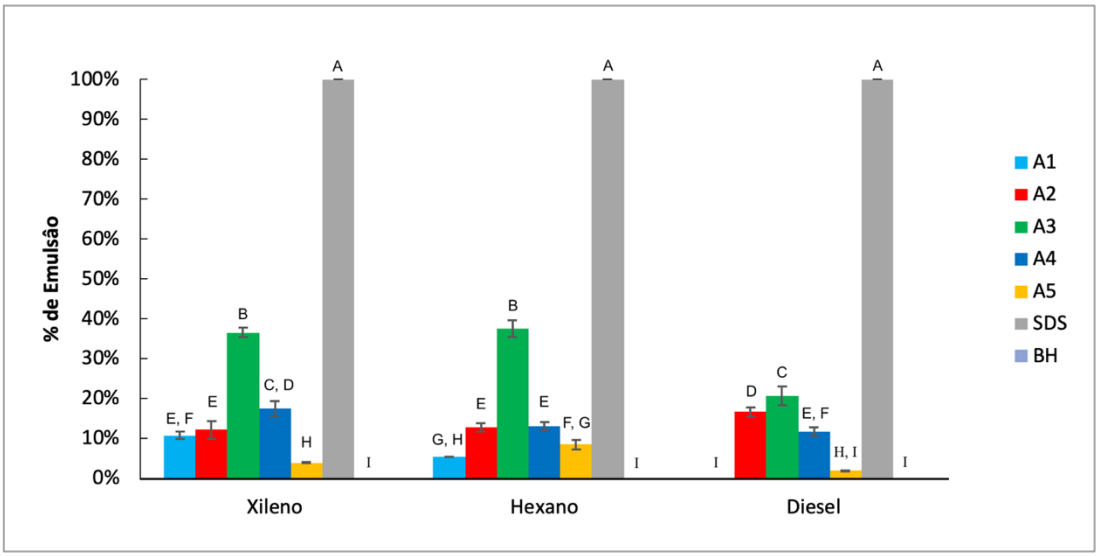


Gráfico 02: Índices de emulsificação em 24 h. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. SDS (0,5 %) – Controle positivo; BH – Controle negativo. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Foi confirmado estatisticamente (tabela 06) que o consórcio A3 apresentou os melhores resultados de emulsificação entre os consórcios testados, com a indicação de que não foram detectadas diferenças significativas nas emulsões em xileno e hexano produzidas por esse consórcio. Mesmo a emulsão em diesel sendo o pior resultado para A3, esta, foi estatisticamente superior àquelas produzidas pelos demais consórcios no mesmo solvente.

O melhor índice de emulsificação para A2 foi observado em diesel (16,67 % ±1,110), diferindo entre as duas outras condições testadas para esse consórcio. O consórcio A4 se destaca emulsificando xileno (17,42 % ±1,933), que difere estatisticamente das demais condições testadas. Já o melhor índice de A1, foi observado no tratamento evolvendo xileno (10,82 % ±0,904), que também apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos daquele consórcio. Em A5 não foram observadas diferenças significativas entre xileno e diesel, apenas em relação a condição hexano. Comparável ao controle negativo, temos as emulsificações apresentada por A1 em diesel e A5 também diesel, indicando que esses foram os piores resultados observados. Nenhum dos tratamentos apresentou resultado estatisticamente semelhante ao controle positivo empregado nesse ensaio.

Tabela 06: Índices de emulsificação (E24h). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste Tukey com significância de 0,05. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados; SDS (0,5%) – Controle positivo; BH – Controle negativo.

	Índice de Emulsificação (%)					
	Xileno		Hexano		Diesel	
A1	$10,82^{E, F}$	±0,904	$5,45^{G, H}$	±0,000	$0,00^{I}$	±0,000
A2	$12,18^{E}$	±2,221	$12,74^{E}$	±1,110	$16,67^{D}$	±1,110
A3	$36,60^{B}$	±1,132	$37,58^{B}$	±2,129	$20,79^{C}$	±2,380
A4	$17,42^{C, D}$	±1,933	$13,07^{E}$	±1,132	$11,73^{E, F}$	±1,069
A5	$3,95^{H}$	±0,045	$8,50^{F, G}$	±1,132	$1,95^{H, I}$	±0,022
BH (Controle -)	$0,00^{I}$	±0,000	$0,00^{I}$	±0,000	$0,00^{I}$	±0,000
SDS (Controle +)	100^{A}	±0,000	100^{A}	±0,000	100^{A}	±0,000

A mensuração dos índices de emulsificação é uma das técnicas empregadas para determinar a capacidade dos microrganismos em produzir biossurfactantes (Morales-Guzmán *et al*., 2017). A literatura sugere que os biossurfactantes produzidos a partir de bactérias marinhas são capazes de destruir as manchas de óleo que flutuam na superfície da água, promovendo a dispersão do óleo na água pela formação de uma emulsão estável, aumentando assim a taxa de biodegradação (Karlapudi *et al.,* 2018). A formação de emulsões é uma das propriedades mais importantes relacionadas a

moléculas frente aos processos de biorremediação. Os biossurfactantes desempenham seu papel na biorremediação aumentando a área de superfície dos substratos. Microrganismos produtores de biossurfactante criam seu próprio microambiente e promovem a emulsificação pela liberação de certos compostos por meio de vários mecanismos (Karlapudi *et al.,* 2018).

A capacidade de produção de emulsão, e por associação, produção de biossurfactantes, varia bastante entre as espécies de bactérias. Por exemplo, Morales-Guzmán *et al*. (2017), avaliou populações bacterianas de solos não contaminados ou contaminados com hidrocarbonetos de petróleo visando estimar suas propriedades emulsificantes e degradadoras de diesel. Os valores de E24% das cepas bacterianas mostraram variação de 74,2 à 10%. Ainda assim, todas as cepas foram usadas na formação de um consórcio que conseguiu degradar 97 % do diesel.

A capacidade de A3 emulsionar entre 20 e 40%, aproximadamente, os solventes orgânicos testados e o diesel, bem como o seu destaque em todas as condições frente aos demais consórcios que foram testados, reforça ainda mais o potencial de A3 para uso em processos de biorremediação.

5.2.3. Teste de hidrofobicidade celular

A hidrofobicidade celular dos microrganismos formadores dos consórcios foi testada quanto à sua capacidade de aderência em solventes orgânicos e em diesel (gráfico 03).

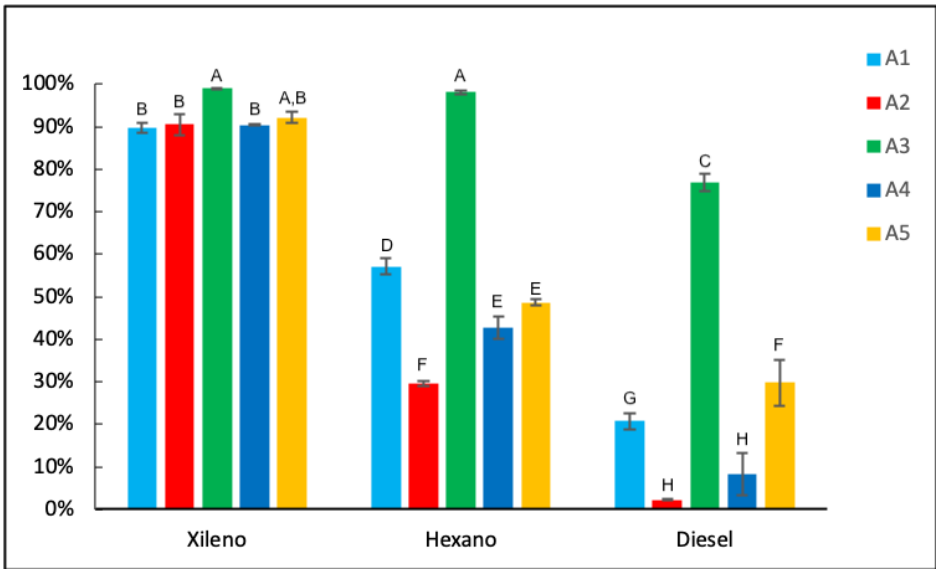


Gráfico 03: Índices de hidrofobicidade celular. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Os dados que estão representados no gráfico 03, indicam que os maiores índices de hidrofobicidade celular foram verificados para o consórcio A3 em todos os solventes testados, atingindo valores próximos de 100 % nos solventes orgânicos e superior a 75 % em diesel. Os resultados da análise de variância e teste *Tukey* dos índices de hidrofobicidade celular estão apresentados na tabela 07. A análise estatística confirmou que os melhores resultados de hidrofobicidade celular foram observados para o consórcio A3 em todas as condições, com a ressalva de que para a condição xileno não houve diferença estatística significativa em relação ao consórcio A5.

Ainda avaliando xileno como solvente, os resultados apresentados pelos consórcios A1, A2, A4 e A5 também não apresentaram diferença estatística significativa. Em hexano, o consórcio A3 não foi comparável a nenhum dos outros consórcios, assim como A1, que teve o segundo maior valor de hidrofobicidade celular nesse solvente. Apenas os consórcios A4 e A5 não diferiram estatisticamente nessa condição. E finalmente, em diesel, os consórcios A2 e A4 foram os únicos que não apresentaram diferenças significativas a nível estatístico, todos os demais resultados foram diferentes.

Tabela 07: Índices de hidrofobicidade celular dos consórcios. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Hidrofobicidade celular (%)						
	Xileno		Hexano		Diesel	
A1	89,7 ^{B}	±1,102	57,1^{D}	±1,848	20,8^{G}	±1,908
A2	90,5 ^{B}	±2,485	29,6^{F}	±0,600	2,2^{H}	±0,200
A3	98,9^{A}	±0,115	98,1 ^{A}	±0,416	76,9^{C}	±2,053
A4	90,4 ^{B}	±0,200	42,7^{E}	±2,730	8,3^{H}	±4,937
A5	92,2 $^{A, B}$	±1,249	48,7^{E}	±0,808	29,7^{F}	±5,353

A hidrofobicidade da superfície celular microbiana é reconhecida como um dos fatores determinantes na adesão microbiana a superfícies de biorremediação (Wang *et al*., 2007). A posse de hidrofobicidade da superfície celular por microrganismos contribui para compatibilidade química e física entre os organismos e os substratos hidrofóbicos, resultando assim em uma interação aprimorada entre eles. Essa interação aumentada levaria a uma maior disponibilidade de substrato e utilização aprimorada. Assim, a ocorrência generalizada de caráter hidrofóbico da superfície celular entre membros da população de microrganismos que degradam hidrocarbonetos,

seria uma característica favorável para a atividade de biorremediação da poluição por hidrocarbonetos em qualquer ambiente (Obuekwe *et al*., 2009).

A hidrofobicidade nativa das superfícies de uma ampla gama de microrganismos foi atribuída a certas proteínas e lipídios presentes na parede celular. A adição de compostos ativos de superfície provavelmente leva a mudanças fenotípicas na superfície microbiana durante o crescimento. Assim, a hidrofobicidade de uma célula microbiana, que pode ser resumida como a afinidade das células microbianas aos poluentes relacionados ao óleo, pode ser alterada dramaticamente (Kaczorek *et al*., 2008). Avaliando o emprego de outras técnicas de remediação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos, fica evidenciado a importância das superfícies hidrofóbicas para remoção do óleo dessas áreas (Catania *et al*., 2020), nesse sentido os altos índices de hidrofobicidade celular observados em A3, por exemplo, é uma característica desejável quando se trata do emprego desses microrganismos em processos de biorremediação.

Resultados de hidrofobicidade celular em torno dos 70%, comparáveis aos descritos neste trabalho para a condição diesel, foi observado por Poddar *et al*. (2019), ao avaliar a adesão ao diesel das espécies isoladas de seu consórcio bacteriano. O isolado *Pantoea sp*. SHC5 apresentou 72,9% de hidrofobicidade celular, enquanto outros isolados como *Enterobacter sp.* SHC6, *Klebsiella spp*. SHC7 e SHC1 apresentaram resultados abaixo disso. Bactérias degradadoras de óleo têm sido caracterizadas por sua afinidade com o hidrocarboneto, no qual um aumento na adesão bacteriana à capacidade do hidrocarboneto permite que a bactéria se separe da fase aquosa e se associe à fase orgânica, interagindo assim com o hidrocarboneto (Poddar *et al*., 2019). Os compostos super-hidrofóbicos geralmente mostram um grau de afinidade em uma faixa de 80-97 %, enquanto os compostos super-hidrofílicos mostram o mesmo em uma faixa de 1-20 % (Rizzo *et al*., 2018; Zhou *et al*., 2018).

Com isso é possível sugerir que as cepas bacterianas presentes no consórcio A3 possuem um grau alto de afinidade com hidrocarbonetos, uma vez que o índice geral de hidrofobicidade para o consórcio foi de quase 77% em diesel.

5.2.4. Biodegradação do óleo diesel pelos consórcios

A biodegradação do óleo diesel pelos consórcios bacterianos testados foi avaliada por gravimetria. Os resultados estão apresentados no gráfico 04, no qual é possível observar que o consórcio A3 foi o que mais degradou os hidrocarbonetos do óleo diesel. Após 7 dias de cultivo,

ficou evidenciado que o consórcio A3 conseguiu consumir/biodegradar 73,7 % (±2,767) dos hidrocarbonetos de diesel, enquanto o consórcio A4 consumiu 66,6 % (±3,729). As análises indicam que o percentual de óleo degradado pelo consórcio A3 não difere estatisticamente do valor obtido para A4, mas difere de todo o resto. Também não foram encontradas diferenças estatísticas significativas para a degradação observada para os consórcios A4 e A5 (tabela 08).

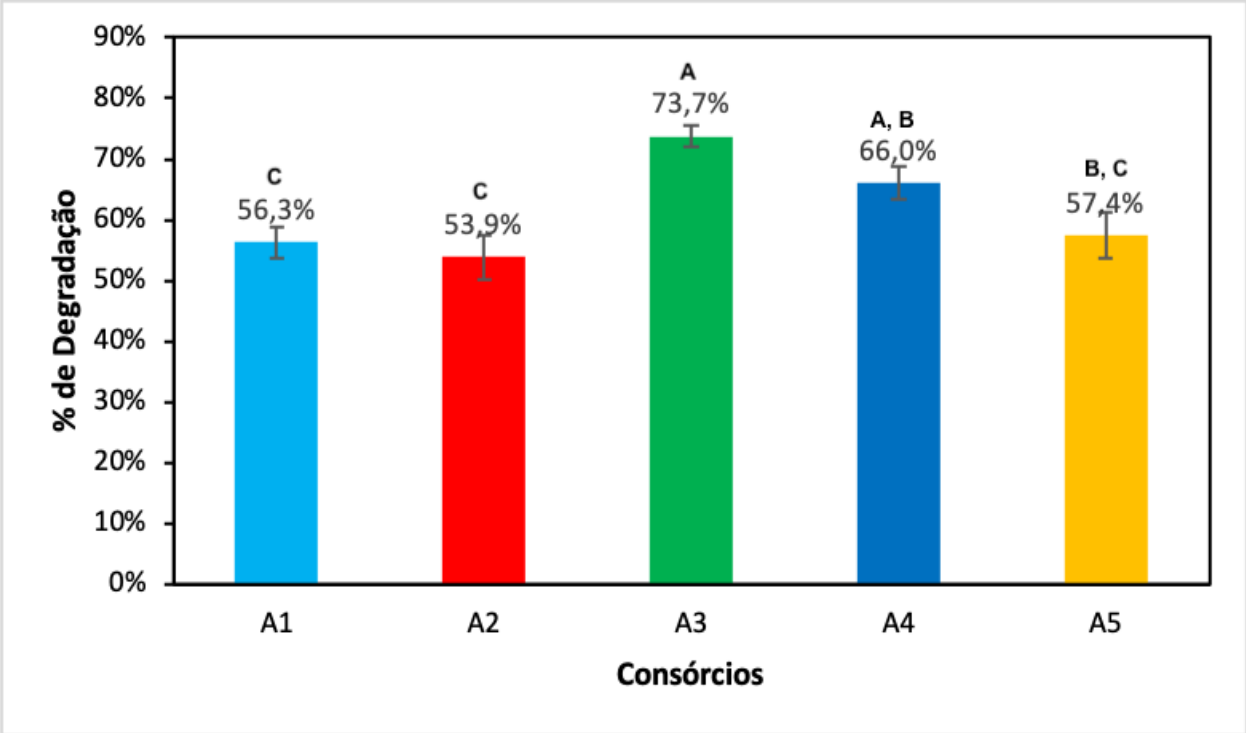


Gráfico 04: Taxas de biodegradação do óleo diesel pelos consórcios. A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Cultivo a 30˚ C, 150rpm, por 7 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Os consórcios A1 e A5 foram responsáveis pela degradação de aproximadamente 56 % do diesel, e A2, que apresentou a menor porcentagem de degradação do óleo, teve uma taxa de biodegradação de 53,7 % (±1,728). Contudo, o teste estatístico indicou não haver diferença significativa entre os três consórcios. Por outro lado, no controle abiótico, foi detectado aproximadamente 19 % de perda do óleo diesel. Essas perdas podem ser em função da evaporação durante o experimento ou mesmo relacionadas as etapas de manipulação. A fórmula utilizada para o cálculo das porcentagens de biodegradação do óleo diesel pelos consórcios leva em consideração a perda atribuída ao controle abiótico, de modo que as taxas apresentadas no gráfico refletem exatamente as porcentagens de degradação de cada consórcio testado.

Tabela 08. Biodegradação do óleo diesel pelos consórcios. C – Controle abiótico; A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Consórcio	Degradação (%)	
C	$19,8^{D}$	±2,553
A1	$56,3^{C}$	±3,681
A2	$53,9^{C}$	±1,728
A3	$73,7^{A}$	±2,767
A4	$66,0^{A, B}$	±3,729
A5	$57,4^{B, C}$	±3,994

Resultados comparáveis aos descritos neste trabalho foram encontrados por García-Cruz *et al.* (2019) ao avaliar um consórcio microbiano, dominado por membros dos gêneros *Marinobacter* e *Alcanivorax*, isolado de sedimentos marinhos do sul do Golfo do México. Seu crescimento, porém, foi avaliado em biorreator de coluna de bolha usando 13 $g.L^{-1}$ de diesel como única fonte de carbono. O crescimento microbiano foi detectável até o 8º dia de cultivo, sendo que no dia 6º de operação, 74,61% do diesel já havia sido consumido. O estudo indicou ainda que o consórcio microbiano era composto por mais de 20 filos, sem precisar exatamente quantas espécies havia ali presentes.

Tiralerdpanich *et al*. (2018), investigou as taxas de biodegradação de diesel, hexadecano e fenantreno, em sedimentos de manguezais contaminados. Os resultados apresentados para a degradação do diesel foram relativamente próximos aos descritos aqui, sendo que a eficiência desse consórcio na remoção do diesel foi 88 %, com a ressalva, porém, de que o tempo de cultivo empregado pelos autores foi de 28 dias.

A eficiência de culturas puras e consórcio bacteriano na biodegradação do diesel foi avaliada por Rizzo *et al*. (2017) para três espécies. A maior eficiência individual de biodegradação do diesel foi obtida para a cepa *Alcanivorax sp*. A53 com uma porcentagem média de 52,7 %, seguida pela de *Pseudomonas sp*. A6 (38,2 %) e *Joostella* sp. A8 (26,8 %). Quando combinados na forma de consórcio a eficiência de biodegradação atingiu valores acima de 99 %. O tempo de experimento foi definido em 20 dias, utilizando 2 % (v/v) de diesel como única fonte de carbono. Chen *et al*. (2019) observaram índices de degradação de 80-99% em uma abordagem de

biorremediação de solo com vários percentuais de contaminação causada por misturas diesel-biodiesel, ao longo de 200 dias de experimentação.

A taxa de biodegradação de hidrocarbonetos é uma consideração importante que determina a escala de tempo para biorremediação em ambientes contaminados com óleo. Ao avaliar os trabalhos mencionados, fica clara a variação nas taxas de degradação em função do tempo de experimentação. Resultados próximos da degradação total do óleo quase sempre demandam um tempo superior de crescimento bacteriano, ou então, condições altamente controladas dos parâmetros que podem afetar a taxa de degradação (pH, temperatura, O_2), como o caso de cultivo em biorreator. Outros parâmetros também interferem diretamente na eficiência dessas taxas de biodegradação de hidrocarbonetos. Como por exemplo, a natureza do local a ser recuperado. A relação tempo/taxa de degradação é afetada, por exemplo, se a recuperação for solo em vez de água, demandando no primeiro caso um tempo bem maior para degradação. E ainda temos eficiência do microrganismo em si. Como foi citado no exemplo das culturas puras, as taxas de degradação podem variar bastante em função do microrganismo, embora quando juntas em consórcio apresentem relativa superioridade na taxa de degradação. E por fim, a quantidade de espécies presentes nos consórcios. Vimos o caso em que dois microrganismos degradavam com eficiência o diesel e casos de consórcios com um número maior de microrganismo com taxa menor de degradação. Isso tudo só evidencia a complexidade de parâmetros que devem ser avaliados na construção de um consórcio bacteriano com reais chances de emprego efetivo para biorremediação de áreas contaminadas com hidrocarbonetos.

Comparando os consórcios apresentados nesses trabalhos em função da eficiência *versus* tempo de cultivo, convém que o consórcio A3 é promissor para aplicação em processos de biorremediação. Este consórcio com três cepas bacterianas isoladas, apresentou capacidade de degradar mais que 70 % do óleo em apenas 7 dias de experimentação.

5.3. TOXICIDADE DO SOBRENADANTE DE CULTURA

5.3.1. Toxicidade em *Artemia salina*

A toxicidade dos sobrenadantes de cada consórcio foi testada em *A. salina* e os resultados são mostrados no gráfico 05. O teste DL_{50} indica a presença de substâncias tóxicas no meio. Ao expor um determinado organismo a um composto, espera-se que pelo menos 50 % da população

de indivíduos expostos responda de maneira quantitativamente idêntica ao longo de um determinado período (Koslowski *et al*., 2020).

Os resultados indicam que em meio BH (controle de viabilidade) a taxa de sobrevivência dos náuplios de *A. salina* ultrapassa 70 % na sua menor diluição (1:1), e com tendências crescentes de sobrevivência nas demais diluições, evidenciando assim, uma pequena influência do meio de cultura na morte dos náuplios ao longo do ensaio. Tendo em vista que todos os sobrenadantes de cultura têm como base esse mesmo meio de cultivo, deve-se levar em consideração esses dados ao analisar os demais resultados.

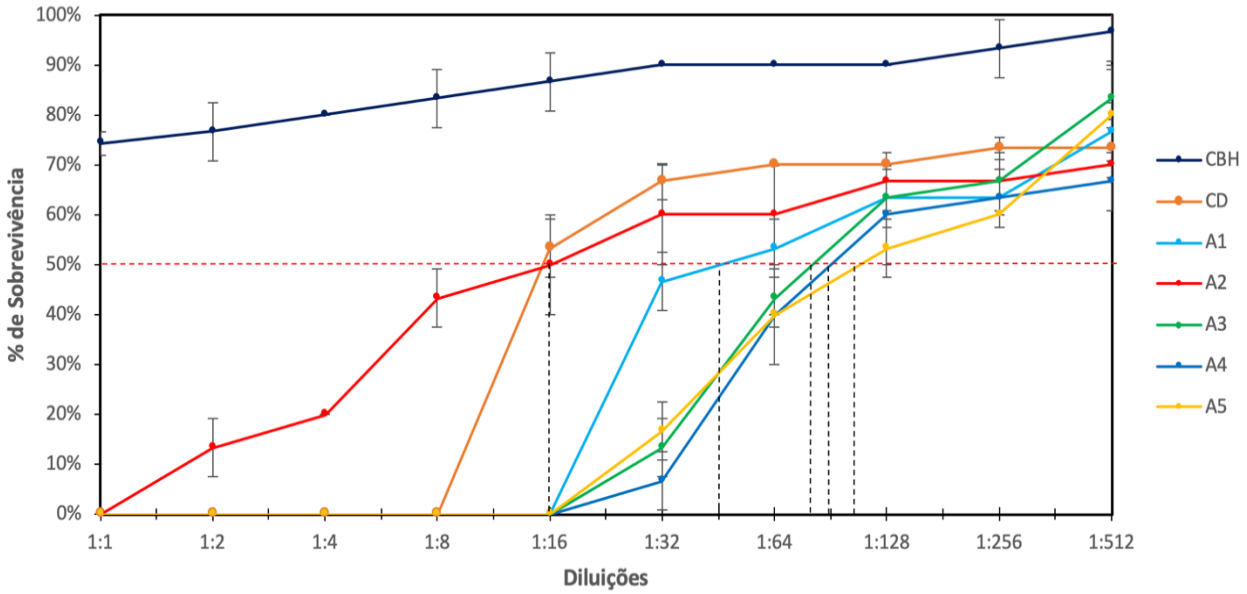


Gráfico 05: Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *A. salina*. CBH – Meio BH; CD – Meio BH + diesel (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadantes dos respectivos consórcios. Cultivo a 30˚ C, por 24h. Diluição em solução salina (2% NaCl, pH 8,5).

O sobrenadante de cultura do consórcio A2 e o controle de toxicidade (meio BH + diesel) não degradado (CD) alcançou taxa de sobrevivência de 50 % dos náuplios de *A. salina* na diluição 1:16, sendo essa a menor DL_{50} dentre os consórcios testados. É interessante frisar, que para os demais consórcios, essa foi a diluição a partir do qual começou a se observar a sobrevivência dos náuplios. A DL_{50} para A1 foi de ≅1:48, e os consórcios A3, A4 e A5 apresentaram DL_{50} relativamente próxima, com A3 ≅1:80, A4 ≅1:96 e A5 ≅1:112. Foi possível, portanto, determinar diluições onde se observou sobrevivência de mais de 50% dos indivíduos para todos os consórcios testados. A tabela 09 apresenta todas as taxas de sobrevivência dos náuplios de *A. salina* em cada diluição para os respectivos consórcios, bem como os desvios padrões observados.

Tabela 09. Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *A. salina*. CBH – controle com meio BH; CD – Controle com meio BH + diesel (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadantes dos respectivos consórcios. Cultivo a 30˚ C, por 24 h. Diluição em solução salina (2 % NaCl, pH 8,5). O sinal " -" indica que o valor de porcentagem e desvio padrão é igual zero. Valores sombreados indicam DL50 ou intervalo onde ela acontece.

Diluição	% de sobrevivência dos náuplios de *A. salina*						
	CBH	**CD**	**A1**	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**
1:1	74 ±2,3	-	-	-	-	-	-
1:2	77 ±5,8	-	-	13 ±5,8	-	-	-
1:4	80 ±0,0	-	-	20 ±0,0	-	-	-
1:8	83 ±5,8	-	-	43 ±5,8	-	-	-
1:16	87 ±5,8	53 ±5,8	-	50 ±10	-	-	-
1:32	90 ±0,0	67 ±3,5	47 ±5,8	60 ±10	13 ±5,8	7 ±5,8	17 ±5,8
1:64	90 ±0,0	70 ±0,0	53 ±5,8	60 ±10	43 ±5,8	40 ±0,0	40 ±10
1:128	90 ±0,0	70 ±0,0	63 ±5,8	67 ±5,8	63 ±5,8	60 ±10	53 ±5,8
1:256	93 ±5,8	73 ±2,3	63 ±5,8	67 ±5,8	67 ±5,8	63 ±5,8	60 ±0,0
1:512	97 ±5,8	73 ±5,8	77 ±5,8	70 ±0,0	83 ±5,8	67 ±5,8	80 ±10

É possível observar que para a maior diluição testada (1:512) houve sobrevivência de 83 % (±5,8) dos náuplios em A3, sendo essa a maior taxa de sobrevivência alcançada entre os consórcios, superando inclusive o controle com diesel não degradado (CD). Nessa mesma diluição, A5 registou 80% (±10) de sobrevivência, seguido por A1 (76% ±5,8), A2 (70% ±0,0) e A4 (66% ±5,8). Os valores de porcentagem, assim como os desvios padrões foram mantidos com uma casa decimal após a vírgula.

Abordagem baseada em testes de bioensaio usando organismos vivos mais sensíveis a poluentes, como *Lactuca sativa*, *Artemia salina* e *Danio rerio*, para a avaliação de toxicidade é preferível para avaliar os reais efeitos biológicos e outros fatores (Módenes *et al*., 2018). Além desses organismos, *Daphnia magna* (Koslowski *et al*., 2020), *Poecilia vivipara* e *Anomalocardia brasiliana* (Durval *et al.,* 2020) podem ser empregados em teste de toxicidade. O valor da concentração letal média (CL_{50}) é usado como um critério de avaliação, fornecendo uma resposta biológica eficaz relacionada a poluentes tóxicos (De Pauli *et al*., 2018).

A ecotoxicidade dos hidrocarbonetos de petróleo é o seu principal perigo para o meio ambiente. Com a biorremediação, a ecotoxicidade dos hidrocarbonetos de petróleo residuais diminui gradualmente (Zhang *et al*., 2021). Um estudo conduzido por Maddela *et al*. (2017) testou a eficiência na degradação dos hidrocarbonetos de petróleo por um consórcio de fungos e bactérias. A toxicidade residual dos hidrocarbonetos e produtos do consórcio foi testada para determinação da DL_{50} em *A. salina* pós 90 dias de degradação. A diluição da amostra com hidrocarbonetos não tratados necessária para produzir um DL_{50} foi de 1:133, e 1:8 para as amostras de solo inoculados com microrganismo.

A toxicidade de um sobrenadante de cultura foi testada em *A. salina* por Rocha e Silva *et al*. (2014). Nesse trabalho, buscavam-se estabelecer uma espécie e o melhor meio de cultivo para produção de biossurfactante, na qual foi escolhido a *Pseudomonas cepacia* CCT6659 cultivada em 100 mL de meio mineral suplementado com 2,0 % de óleo de fritura de resíduo de soja como fonte de carbono e 2,0 % de macerado de milho como fonte de nitrogênio. O caldo livre de células apresentou DL_{50} na concentração de 156 mg/L, sendo o biossurfactante nesse caso considerado de baixíssima toxicidade. Porém, o trabalho faz a análise da toxicidade unicamente de um biossurfactante produzido em caldo sem adição de hidrocarbonetos de petróleo. No estudo apresentado aqui, foi avaliada a toxicidade do sobrenadante de cultura (proteínas/biossurfactantes) e ainda dos resíduos de diesel não degradado.

Quanto à toxicidade do diesel não degradado, os resultados obtidos são próximos aos encontrados por Khan *et al.* (2007) sobre *Oncorhynchus mykiss* e *Daphnia magna*. Nesse trabalho eles determinaram a concentração letal média (LC_{50}) em diferentes tempos de exposição e foi desenvolvida uma classificação de toxicidade para o diesel. Os valores médios de LC_{50} para diesel variaram de um mínimo de 133,5 ppm a um máximo de 578,1 ppm. Os resultados apresentados aqui estão dentro dessa margem para toxicidade com diesel não tratado. Considerando que os testes neste trabalho são realizados sempre com diesel 1 % (v/v), e sua densidade é 0,865g/cm^3 (Malik *et al*., 2020), uma diluição de 1:16 (onde foi observado DL_{50} para CD) nos daria algo em torno de 508 ppm, portanto, dentro da faixa de toxicidade estabelecida por Khan *et al.* (2007).

5.3.2. Toxicidade em *Lactuca sativa*

A toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios também foram testados em sementes de alface (*L. sativa)*. Os resultados estão representados no gráfico 06, que indica a

porcentagem de germinação das sementes de alface após incubação com o sobrenadante de cultura dos consórcios e ainda com diesel não tratado com consórcio.

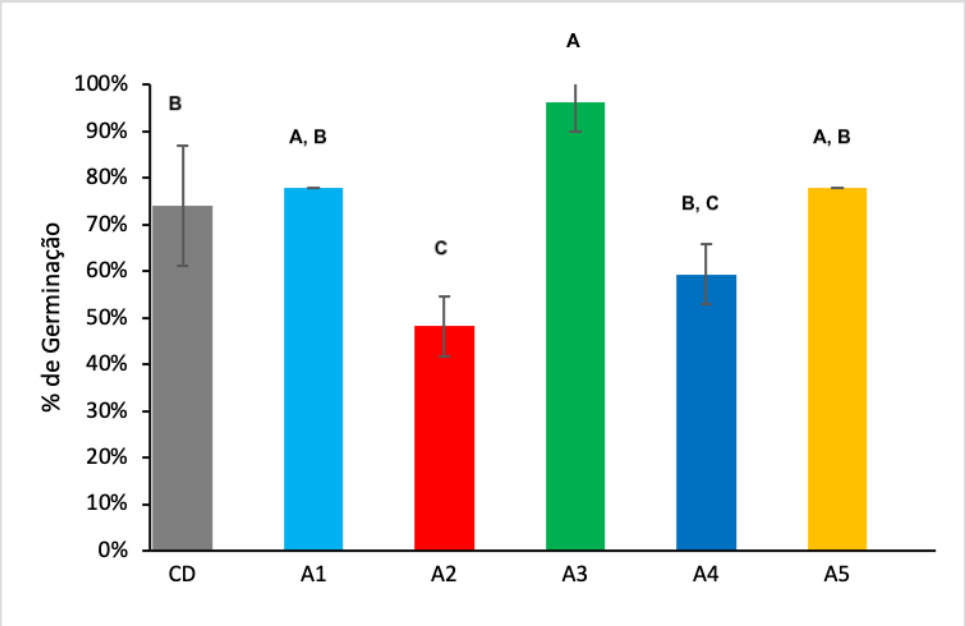


Gráfico 06: Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *L. sativa* CD – Meio BH + diesel não degradado (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadante dos respectivos consórcios. Condições de cultivo dos consórcios: 150 rpm, 30˚ C, 7 dias. Condições de cultivo das sementes: 27˚ C, por 7 dias, no escuro. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Os resultados indicam taxa de germinação de 96,3 % (±6,41) das sementes nos extratos do consórcio A3, a maior taxa de germinação observada entre os consórcios. As taxas de germinação observadas para os extratos dos consórcios A1 e A5 foram exatamente as mesmas (77,8 % ±0,0). De acordo com a análise estatística empregada o resultado obtido para A3 não apresentou diferença estatística significativa em relação aos tratamentos com A1 e A5 (tabela 10). Para A4 a taxa de germinação foi de 59,3 % (±6,41). O único extrato onde não se observou taxa de germinação maior que 50 % foi em A2 (48,1 % ±6,41). Apenas A1, A3 e A5 conseguiram superar a taxa de germinação do controle (CD) (74,1 % ±12,83), em que foi utilizado diesel não biodegradado. O teste estatístico indicou ainda que os extratos de A1, A4, A5 e CD não apresentaram diferença estatística significativa quanto as taxas de germinação, assim com A4 e A2 também não diferiram estatisticamente.

A diferença mais acentuada em relação a CD, foi observada em A3, onde a germinação foi de quase 100 % das sementes após a biodegradação do óleo diesel. A3 diferiu estatisticamente do controle com diesel não degradado (CD). As taxas germinação em A1 e A5 foram muito parecidas

com as de CD. Comparando os desvios padrões das amostras, foi observado uma variação de mais de 12 % nas germinações de semente tratadas em CD, indicando portando uma instabilidade maior nas germinações das triplicatas tratadas com diesel não degradado.

Tabela 10. Toxicidade dos sobrenadantes de cultura dos consórcios para *L. sativa*. CD – Controle com diesel não biodegradado; A1, A2, A3, A4, A5 – Consórcios bacterianos testados. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Análise de variância e teste *Tukey* com significância de 0,05.

Amostra	% de Germinação	
CD	$74,1^{B}$	±12,83
A1	$77,8^{A, B}$	±0,00
A2	$48,1^{C}$	±6,41
A3	$96,3^{A}$	±6,41
A4	$59,3^{B, C}$	±6,41
A5	$77,8^{A, B}$	±0,00

Na figura 05 é possível visualizar todas as plântulas de alface germinadas após os 07 dias de experimentos. É possível observar que, além de A2 ter tido os piores índices de germinação, também foram observados os menores tamanhos de plântulas, indicando uma possível interferência do sobrenadante de cultura desse consórcio na germinação e crescimento das plântulas.

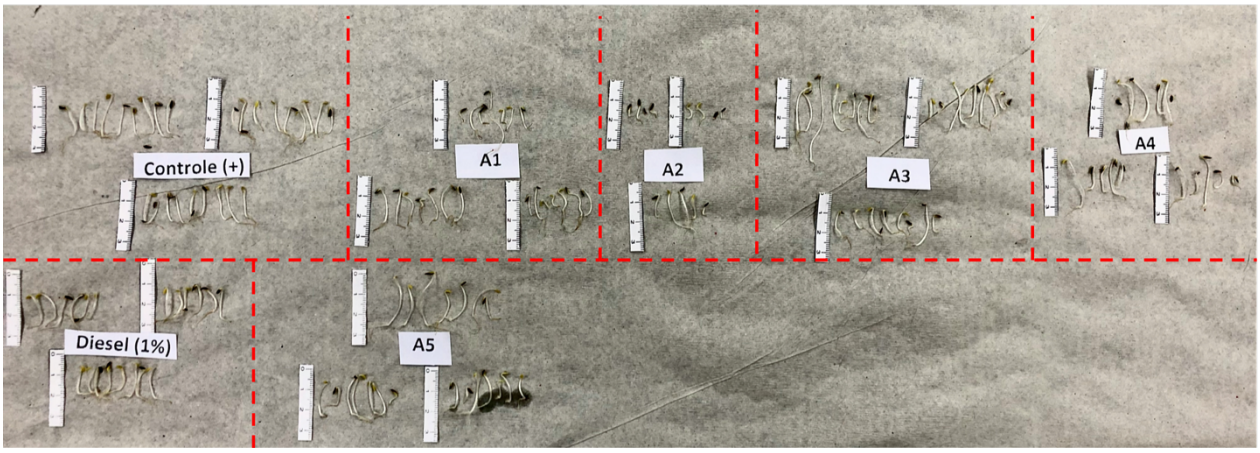


Figura 05: Comparação do tamanho do das plântulas de *L. sativa* tratadas com sobrenadantes de cultura dos consórcios. Controle (+) - Controle positivo com água destilada; Diesel (1%) – Controle com meio BH + diesel não degradado (1% v/v); A1, A2, A3, A4, A5 – Sobrenadante dos respectivos consórcios. Escala apresentada: 3,5 cm. Condições de cultivo dos consórcios: 150 rpm, 30˚ C, 7 dias.

O tratamento com diesel, como já indicamos, teve a maior variação de germinação de sementes, porém o crescimento delas se manteve praticamente na mesma proporção nas triplicatas. Ainda em relação a esse tratamento, quando comparado ao controle positivo, percebe-se que há pouca variação em relação aos tamanhos das plântulas. Os tratamentos envolvendo os consórcios A3 e A5 foram aqueles que a apresentaram as maiores plântulas, chegando em alguns casos a ultrapassarem 3 cm, resultados esses que não foram observados nem no controle positivo. Isso indica uma possível influência positiva dos sobrenadantes dessas culturas no crescimento das plântulas. Os tratamentos usando sobrenadante de cultura dos consórcios A1 e A4 apresentaram variações com tamanhos similares.

Muitas plantas têm sido utilizadas para avaliar a fitotoxicidade de contaminantes no meio ambiente. O trigo (*Triticum aestivum*), grama (*Lolium spp*.), alface (*Lactuca sativa*), couve chinesa (*Brassica chinensis*) são vários organismos de teste terrestres recomendados por organizações reguladoras ambientais para avaliar os efeitos crônicos de contaminantes do solo (Khan *et al*., 2018). O teste de germinação tem sido empregado para medir a fitotoxicidade devido ao seu baixo custo de execução (Chandankere *et al*., 2014). Além da germinação das sementes, o comprimento do caule e o número de ramos podem ser usados também como critérios para avaliação de fitotoxicidade envolvendo hidrocarbonetos (Maddela *et al*., 2017). O crescimento da planta é inibido tanto pela natureza dos hidrocarbonetos quanto pela concentração de hidrocarbonetos presentes no solo. As propriedades hidrofóbicas dos hidrocarbonetos limitam a capacidade das plantas de absorver água e nutrientes do solo (Khan *et al.,* 2018).

Montagnolli *et al*. (2015) avaliou a fitotoxicidade em *L. sativa* de vários compostos, inclusive do diesel, antes e depois de um processo de biodegradação. Foram observadas taxas de germinação em torno de 80 %, porém, as taxas de germinação em diesel biodegradado foram menores que 80 %, indicando que houve piora no nível de toxicidade após a degradação do diesel. Neste trabalho, no caso do diesel não degradado obteve-se resultados muito próximos a esses (77,8 %), indicando a reprodutibilidade do teste. Em relação aos consórcios, apenas o consórcio A3 apresentou índice de germinação estatisticamente superior ao diesel não tratado, sendo, portanto, o único consórcio que conseguiu diminuir a toxicidade do diesel após 7 dias de degradação. Os demais consórcios, ou apresentaram índices de germinação sem diferença estatística significativa (A1 e A5) em relação ao diesel não tratado, ou inferior a esse (A2 e A4).

A produção de metabólitos tóxicos pode ter ocorrido durante a biodegradação do óleo o que pode influenciar diretamente nos índices de germinação. Isso pode ser um indicativo do aparecimento de inibidores de crescimento (Montagnolli *et al*., 2015). Conforme os resultados observados para os ensaios envolvendo A2, percebeu-se diferença significativa ao tamanho das plântulas em relação ao controle positivo, evidenciando a hipótese de piora nos níveis de toxicidade. Em A3 e A5, porém, foi observado que algumas plântulas apresentavam crescimento superior ao controle positivo, com a diferença de que em A5 a toxicidade do sobrenadante foi comparável ao diesel não tratado. A avaliação do efeito inibitório no alongamento da raiz e do hipocótilo de mudas pode refletir a toxicidade de compostos solúveis presentes em baixa concentração que não são suficientes para inibir a germinação, mas podem atrasar ou inibir o processo de alongamento da raiz ou do hipocótilo (Cruz *et al*., 2014). Os dados obtidos reforçam ainda mais o potencial promissor para emprego do consórcio A3 em processos de biorremediação.

5.4. CONSÓRCIO A3 COMO O MAIS PROMISSOR PARA A BIORREMEDIAÇÃO

Os testes realizados serviram para indicar um consórcio bacteriano para as análises de proteômica. Na tabela 11 é apresentado o melhor resultado de cada teste realizado. Nos casos em que não há diferença estatística significativa entre os melhores resultados, foram incluídos dois ou mais consórcios. O emprego de diferentes técnicas combinadas para selecionar o melhor consórcio para biorremediação reforça a eficiência do consórcio selecionado. A escolha do consórcio mais eficiente deve, obviamente, ser baseado nos resultados que mais se destacam entre aqueles testes empregados. No presente trabalho, os resultados relacionados à biodegradação e ecotoxicidade mostrados sugerem que as cepas de bactérias do consórcio A3 têm grande potencial na degradação do óleo diesel, e, portanto, este consórcio é o indicado para análise por proteômica.

Tabela 11. Comparação entre os consórcios em relação aos melhores resultados dos testes realizados. X – Xileno; H – Hexano; D – Diesel; Biod. – Teste de biodegradação do diesel.

Cons.	DCPIP	Emulsificação			Hidrofobicidade			Biod.	Toxicidade	
		X	H	D	X	H	D		*A. salina*	*L. sativa*
A1									●	
A2									●	●
A3	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
A4								●		●
A5					●					●

5.5. ANÁLISE PROTEÔMICA DO CONSÓRCIO A3

5.5.1. Definição dos gêneros e espécies do consórcio por espectrometria de massa

Para definição de gêneros e espécies presentes no consórcio A3, foram identificadas 754 proteínas, sendo que 143 dessas proteínas foram identificadas como proteínas ribossomais. Uma análise detalhada das proteínas ribossomais presentes nas amostras indicou que elas eram, de acordo com os resultados para as buscas naquele banco de dados utilizado, semelhantes às proteínas ribossomais de 27 gêneros bacterianos diferentes (gráfico 07).

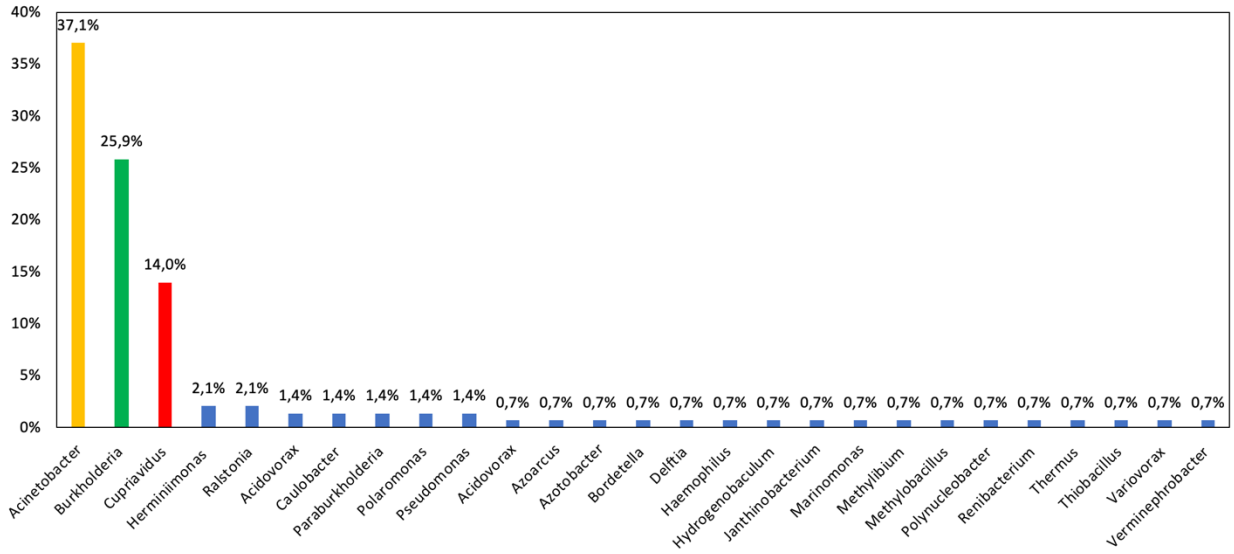


Gráfico 07. Identificação dos gêneros constituintes do consórcio A3 baseada no perfil de proteínas ribossomais. No gráfico é apresentada a distribuição das proteínas ribossomais entre os gêneros bacterianos identificados através da busca no banco de dados *Uniprot.* O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foi "*Bacteria*" do *Uniprot.* Pesquisado em 20/03/2020.

O gênero *Acinetobacter* concentrou 37,1 % de todas as proteínas ribossomais, seguido por *Burkholderia* com 25,9 % e *Cupriavidus* com 14 %. Os demais gêneros somaram juntos 23 % das proteínas avaliadas. Entre esses gêneros restantes, nenhum deles superou individualmente os 2,1 %, sendo que em termos de quantidades, apenas 07 deles apresentaram mais que 01 proteína e os outros 17 apresentaram uma única ocorrência de proteína ribossomal dentre todas as que foram analisadas. Vale lembrar que foram isoladas três cepas bacterianas morfologicamente distintas do consórcio A3 (tabela 03). Entre os três gêneros mais prevalentes mostrados no gráfico 07, o gênero *Acinetobacter* foi o que apresentou maior quantidade de proteínas ribossomais. E de um total de

53 proteínas ribossomais encontradas para esse gênero, 84,9% (45 proteínas) foram identificadas como pertencentes à *A. baumannii*, e apenas 15,1% (8 proteínas) pertencentes a *A. baylyi.*

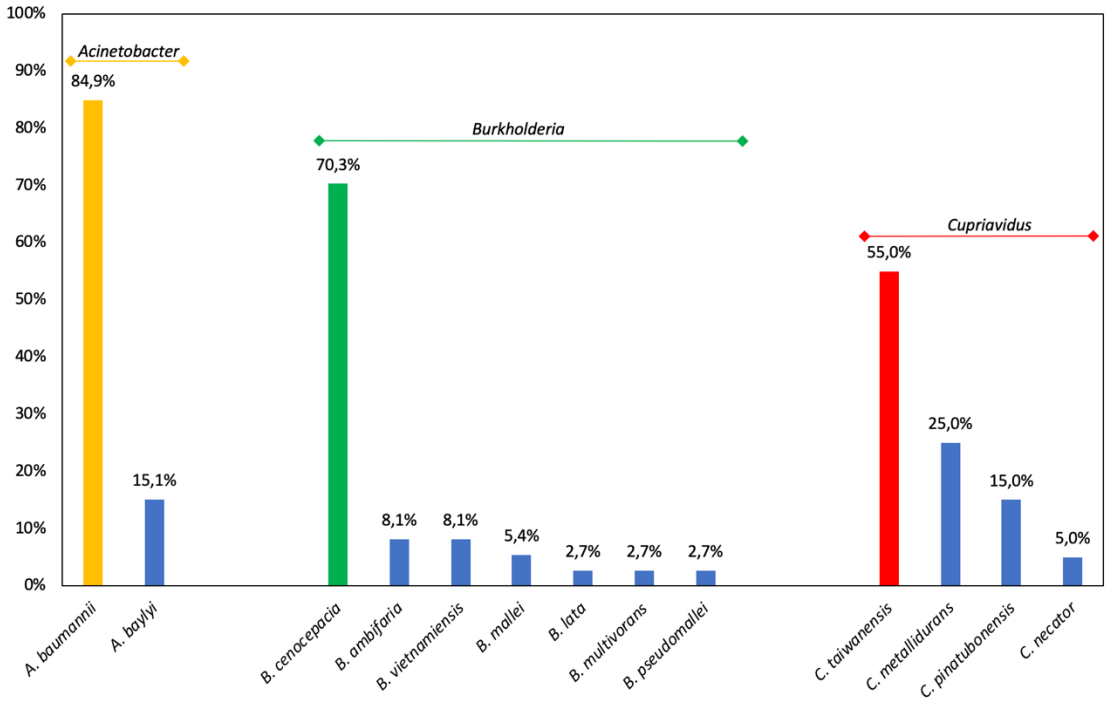


Gráfico 08. Identificação das espécies constituintes do consórcio A3 baseada no perfil de proteínas ribossomais. No gráfico é apresentada a distribuição de proteínas ribossomais entre as espécies de cada um dos três gêneros mais prevalentes. O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foi "*Bacteria*" do *Uniprot*. Pesquisado em 20/03/2020.

O gênero *Burkholderia* foi o que apresentou o maior número de espécies. De um total 37 de proteínas ribossomais avaliadas nesse gênero, 73,3% (26 proteínas) foram relacionadas a *B. cenocepacia*, as demais espécies não ultrapassaram os 8% cada (3 proteínas no máximo). E finalmente, para o gênero *Cupriavidus,* com 20 proteínas ribossomais analisadas, 55% (11 proteínas) foram indicadas como pertencentes a *C. taiwanensis*, 25% (5 proteínas) à *C. metallidurans* e os 20% restantes pertencentes a duas outras espécies. As porcentagens de distribuição de proteínas entre os gêneros estão representadas no gráfico 08.Também avaliamos se haveria a possibilidade de um dos três gêneros apresentar mais de uma espécie no consórcio A3. Os resultados dessa análise confirmaram a prevalência de três espécies pertencentes a três gêneros distintos no consórcio A3, conforme pode ser observado gráfico 09. Os resultados indicam que

41% (45 proteínas) dessas proteínas ribossomais analisadas (110) pertenciam a *A. baumannii,* seguido de 24% (26 proteínas) para *B. cenocepacia* e 10% (11 proteínas) para *C. taiwanesis.*

A identificação de espécies microbianas com base em espectrometria de massa surgiu como uma alternativa aos métodos tradicionais de identificação baseados em fenótipo ou genótipo (Karlsson *et al*., 2020). Muitos estudos têm mostrado que os picos massa/carga (m/z) mais usados para identificação de espécies de bactérias são os de proteínas ribossomais (Ryzhov e Fenselau, 2001; Pineda *et al*., 2003; Teramoto *et al*., 2007; Suarez *et al.,* 2013). Isso por que as proteínas ribossomais são universais na vida celular e a maioria dessas proteínas são altamente conservadas dentro de uma espécie bacteriana (Suarez *et al.,* 2013).

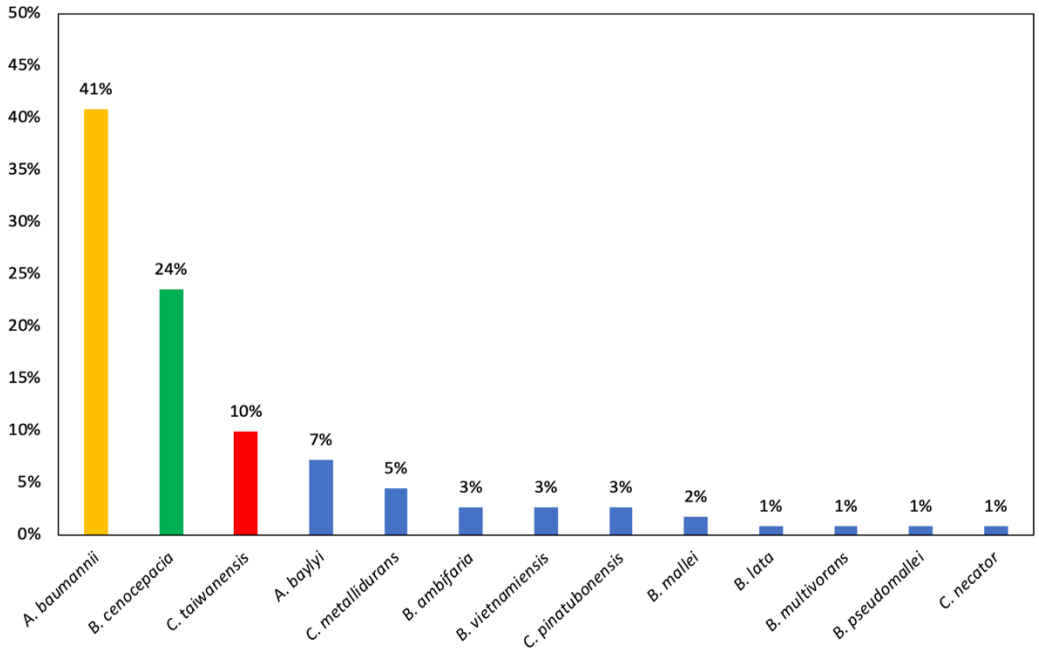


Gráfico 09. Distribuição de proteínas ribossomais entre todas as espécies dos três gêneros mais prevalentes. O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, London, UK; versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foi "*Bacteria*" do *Uniprot*. Assumiu-se a tripsina como enzima de digestão proteolítica. Pesquisado em 20/03/2020.

Quanto a utilização desses gêneros bacterianos em processos de biorremediação, existem alguns trabalhos mostrando o envolvimento deles na degradação de hidrocarbonetos. O gênero *Acinetobacter* é um dos mais bem caracterizados em relação ao seu envolvimento em processos de biorremediação (Logeshwaran *et al*., 2018; Imron *et al*., 2019; Imron *et al*., 2020; Adetunji e Olaniran, 2021). Também existem relatos da participação do gênero *Burkholderia* nesses processos (Mohanty e Mukherji, 2008; Morlett-Chávez *et al*., 2010; Mohammed *et al*., 2018; Morya *et al*.,

2020). E finalmente o gênero *Cupriavidus* também tem sido empregado em processos de biorremediação nos últimos anos (Min *et al*., 2020; Tiwari *et al*., 2020; Yi *et al*., 2020; Deng e Zhou, 2021). E por fim, o envolvimento direto de *A. baumannii* (Gupta *et al*., 2020; Zhang *et al.,* 2021), *B. cenocepacia* (Obuekwe *et al*., 2009; Nguyen *et al*., 2021) e *C. taiwanensis* (Oyehan e Al-Thukair, 2017; Obruca *et al*., 2018) em processos de biorremediação também tem sido relatado.

5.5.2. Proteínas identificadas

As buscas nos bancos de dados das três espécies mais prevalentes no consórcio A3 resultaram na identificação de 890 proteínas no total (figura 06a), sendo 816 delas comuns às duas amostras, 23 exclusivas de A3In (totalizando 839) e 51 exclusiva de A3Ex (totalizando 867).

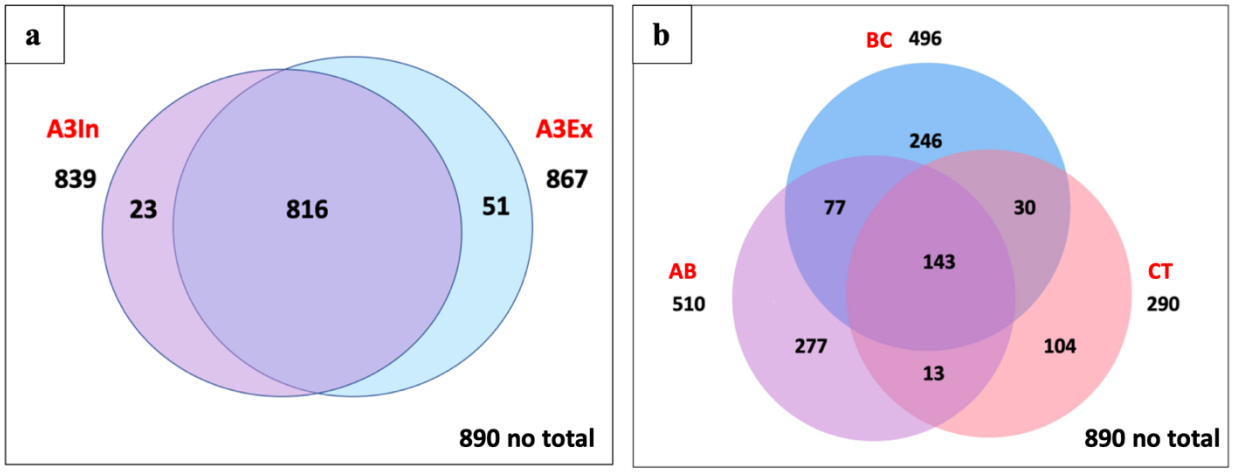


Figura 06: Representação das Quantidades totais de proteínas identificadas em Diagrama de Venn. (a) – Proteínas identificadas nas amostras intracelular (A3In) e extracelular (A3Ex). (b) – Proteínas identificadas por espécie (AB – *A. baumannii;* BC – *B. cenocepacia;* CT – *C. taiwanensis* (CT). O *software* utilizado para fazer as buscas foi *Mascot* (*Matrix Science*, versão 2.5.1). Banco de dados pesquisado foram "*A. baumannii", "B. cenocepacia" e "C. taiwanensis"* do *Uniprot*. Pesquisado em 20/03/2020.

Quanto à identificação de proteínas por espécies, foram identificadas 510 proteínas para *A. baumannii* (AB), sendo 246 exclusivas para essa espécie, 496 para *B. cenocepacia* (BC), com 277 exclusivas, e 290 para *C. taiwanensis* (CT) sendo 104 exclusivas para a espécie. Comuns a todas as espécies, foram identificadas 143 proteínas, e outras foram identificadas como sendo comuns a duas espécies apenas, de acordo com a figura 06b. AB e BC compartilham 77 proteínas, BC e CT, 30 proteínas e AB e CT, apenas 13. Uma lista completa com todas essas proteínas foi incluída no apêndice 02.

A determinação do "componente celular" onde elas atuam, bem como sua "função molecular" e "processo biológico" que desempenham nas células foram obtidas no *Gene Ontology* (*GO*)*, Uniprot e Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG*). Para 361 (40,5 %) de proteínas identificadas não foi possível obter informações acerca de componente celular do qual essas proteínas fazem parte, uma vez que essas informações não foram conclusivas nas bases de dados pesquisadas. Para aquelas em que foi possível definir essa informação, verificou-se que a maioria tem como componente celular o citoplasma (253) e a membrana plasmática (141). Mitocôndria e ribossomos foram associados a aproximadamente 50 proteínas cada, seguidos por membrana externa/parede celular (22), ácidos nucleicos (7) e citoesqueleto (3) (figura 07). Quanto as proteínas associadas à mitocôndria, o *Gene Ontology* não limita as busca apenas para procarioto, e como a busca é feita pelo nome da proteína e suas variações de nome, é possível que em eucariotos essas proteínas estejam na mitocôndria e em procariotos no ribossomo.

Em relação à função molecular, a grande maioria das proteínas identificadas foram classificadas como enzimas das classes oxidorredutase (169), transferase (144) e hidrolase (75), outras 04 classes somaram 154 proteínas. Merece destaque também a quantidade de proteínas identificadas como estando associadas ao transporte (86) e ligação aos ácidos nucleicos (77) (figura 07). O número expressivo de oxidorredutases e hidrolases identificadas nas amostras pode ter alguma relação com capacidade de biorremediação dos microrganismos da amostra. Existem vários tipos de enzimas como oxidorredutases, lacases, hidrolases e peroxidases ativamente envolvidas em processos de biorremediação (Kadri *et al.*, 2017).

As oxidorredutases são produzidas por várias espécies de microrganismos e plantas para neutralizar composto por oxidação, envolvendo transferência de elétrons dos redutores para os oxidantes, resultando na liberação de íons cloreto, CO_2 e metanol. Calor ou energia são gerados como resultado da degradação dos poluentes por oxidorredutases, sendo utilizado pelos microrganismos para suas atividades metabólicas. As oxidorredutases têm sido utilizadas na degradação de muitos poluentes naturais e artificiais. Por exemplo, uma bactéria Gram positiva *Bacillus safensis* CFA-06 produz oxidorredutase para degradar os compostos de petróleo **(**Sharma *et al*., 2018).



Figura 07: Anotação funcional das proteínas do consórcio A3 com base no componente celular, função molecular e processo biológico. Informações obtidas no *Gene Ontology* (GO), bancos de dados *Uniprot* e *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG*). Destaques em vermelho indicam função molecular ou processo biológico que podem ter relação com a degradação de xenobiótico. Pesquisado em 20/03/2020.

As hidrolases são mais comumente usadas para a biorremediação de pesticidas, inseticidas e redução de sua toxicidade **(**Sharma *et al*., 2018). As principais ligações químicas, como ésteres, ligações peptídicas, ligações de haleto de carbono, etc., são quebradas por diferentes enzimas hidrolíticas. As hidrolases extracelulares secretadas por alguns microrganismos catalisam a biodegradação de polímeros orgânicos, compostos tóxicos com massas moleculares inferiores a

600 Da que podem passar pelos poros celulares. A biorremediação de derramamento de óleo, inseticidas organofosforados e carbamatos usando enzimas hidrolíticas também é muito eficaz **(**Sharma *et al*., 2018).

Em relação aos processos biológicos (figura 07) anotados a partir do *GO, Uniprot* e *KEEG*, as proteínas foram agrupadas em 23 processos biológicos. Foram agrupados como "indefinido" 138 proteínas que não apresentaram com clareza as informações pertinentes aos processos biológicos nos quais atuam, e por isso foram categorizados como "indefinido". Para as demais proteínas identificadas, o "metabolismo de aminoácidos" foi o que mais agrupou proteínas (104), seguido por "sinalização e processo celular" (70), transcrição (61) e tradução (53).

"Degradação de xenobióticos" incorporou 34 das 890 proteínas, o que representa aproximadamente 4 % de todas as proteínas identificadas do consórcio A3. Proteínas relacionadas a "resposta ao estresse" e "recombinação e reparo do DNA" somaram 19 no total. A quantidade de proteínas envolvidas com o metabolismo energético, mais especificamente o "ciclo do ácido tricarboxílico" somaram 20 proteínas, destacando-se a identificação de todas as proteínas do ciclo. Vale ressaltar que muitos dos produtos finais das vias de degradação de xenobióticos tem como destino final o ciclo de *Krebs*. "Metabolismos de ácidos graxos/lipídeos" (33) também foram destacados na figura devido ao envolvimento de uma parte uma grande parte dessas proteínas no metabolismo de *n*-alcanos, embora não exista, no *KEGG*, uma categoria específica de "degradação de alcanos". As vias metabólicas das quais essas proteínas estão envolvidas também foram anotadas com base no banco de dados *KEGG*. Um total de 110 vias metabólicas foram parcialmente identificadas. A figura 08 resume as principais vias encontradas. Vale ressaltar que existe sobreposição de proteínas entre as vias metabólicas, ou seja, uma mesma proteína pode atuar em duas, três ou mais vias.

As diferentes vias anotadas com foco na degradação de xenobióticos inclui a degradação do aminobenzoato (map00627), degradação do benzoato (map00362), degradação de caprolactama (map00930), degradação de cloroalcano e cloroalceno (map00625), degradação de clorociclohexano e clorobenzeno (map00361), degradação de compostos aromáticos (map01220), degradação de etilbenzeno (map00642), degradação do fluorobenzoato (map00364), degradação do naftaleno (map00626), degradação do tolueno (map00623) e degradação do xileno (map00622). A via de degradação dos ácidos graxos (map00071) também foi destacada, uma vez que a

degradação de *n*-alcanos consiste inicialmente na conversão desses compostos à ácido graxo, para então entrarem na via de degradação de ácidos graxos (Imron *et al.*, 2020).

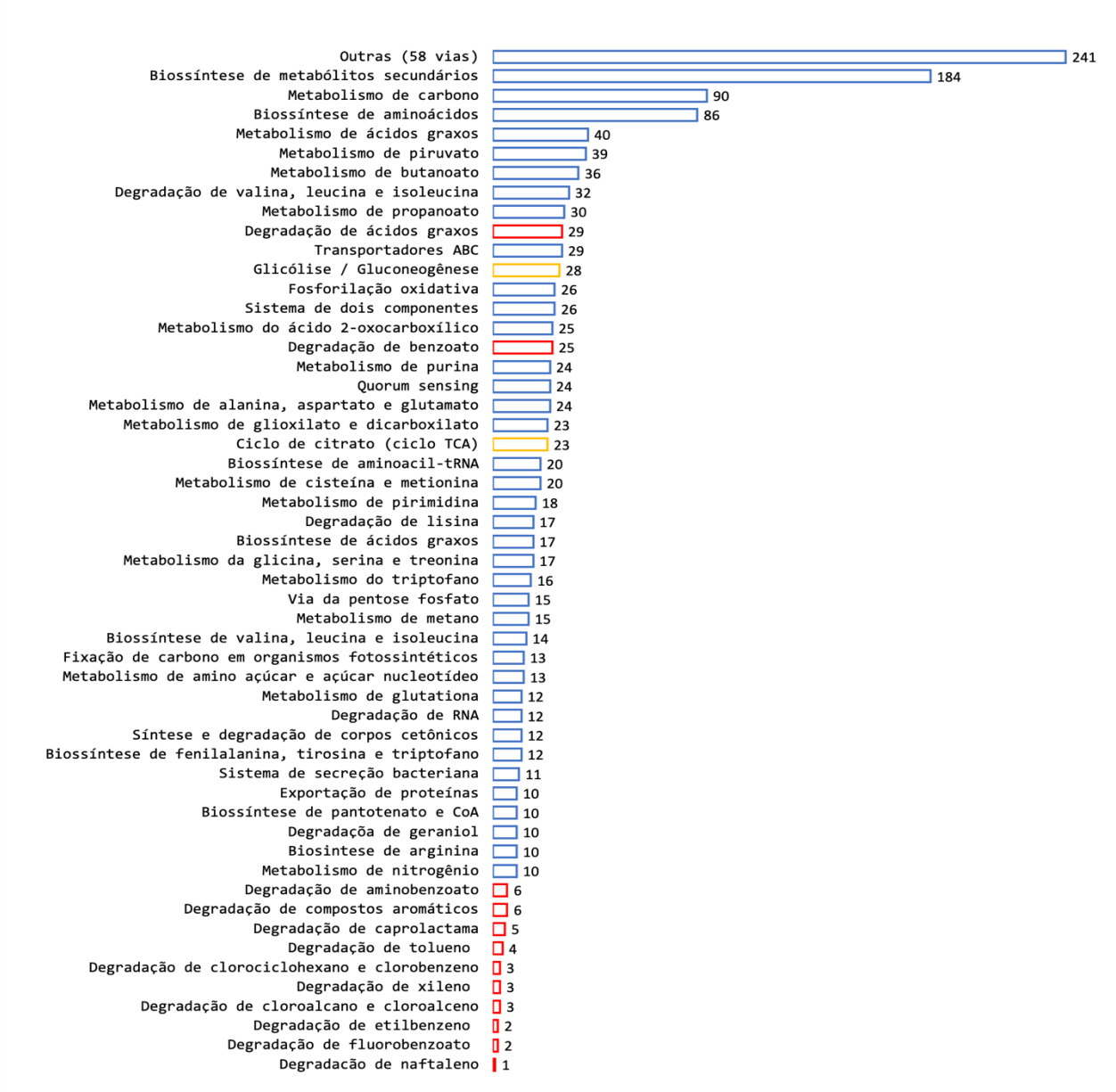


Figura 08: Vias metabólicas nas quais as proteínas do consórcio A3 podem atuar. Informações obtidas no *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG*). Pesquisado em 20/03/2020. Destaques em laranja representam as vias relacionadas ao metabolismo energético central. Os destaques em vermelho indicam via associadas com a degradação de xenobióticos.

Além das 34 proteínas que atuam diretamente na degradação de xenobióticos, outras 13 proteínas que atuam de modo indireto para o favorecimento da degradação desses compostos foram incluídas na tabela 12. Essas incluem aquelas associadas na degradação de *n*-alcanos (degradam

ácidos graxos), envolvidas no transporte de xenobióticos ou ainda aquelas que tenham relação com redução ao estresse celular associado aos hidrocarbonetos. Portanto, foram destacadas 47 proteínas que foram associadas de modo direto ou indireto na degradação de xenobióticos. Essas proteínas foram identificadas em vias de degradação de 13 compostos xenobióticos, que incluem anéis aromáticos e compostos alifáticos. A maior quantidade dessas proteínas foi associada à via de degradação do benzoato (25), as demais vias tiveram 06 proteínas identificadas, ou menos, cada uma. A quantidade de proteínas da via degradação de ácidos graxos somaram 29 no total, onde foi possível identificar todas as proteínas da ß-oxidação. A lista com as 47 proteínas agrupadas como envolvidas na degradação de xenobióticos está representada na tabela 12.

Tabela 12. Proteínas envolvidas na degradação de xenobióticos. # - Sequência em que aparece na lista do apêndice 02; Esp. – Espécie na qual foi identificada; MM kDa – Massa molecular em kDa; Am. – Amostra onde foi identificada.

#	Proteínas (49)	Esp	Código de acesso	EC Number	MM kDa	Via Metabólicas	Am.
1	1,4-dihydroxy-2- naphthoyl-CoA synthase	CT	Q0K0J4	3.1.2.-	29	Deg. Benzoato; Deg. Comp. Aromáticos	In/Ex
10	2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase	CT	Q0K3T0	1.2.1.85	53	Deg. Benzoato; Deg. Xileno; Deg. Comp. Aromáticos	Ex
26	3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	CT	Q0KCM8	1.1.1.157	53	Deg. Benzoato	In/Ex
28	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	BC	A0A0H3KM46	1.1.1.35	88	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato;	In/Ex
30	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase	BC	A0A0H3KDT9	1.1.1.157	33	Deg. Benzoato	In/Ex
31	3-hydroxybutyryl-CoA epimerase	BC	A0A0H3KFK5	1.1.1.35	75	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
36	3-ketoacyl-CoA thiolase	AB	Q6FF69	2.3.1.16	41	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
43	3-Oxoadipate CoA-Transf. subunit A	CT	Q0K4S5	2.8.3.6	24	Deg. Benzoato	In/Ex
130	Acetyl-CoA acetyl transferase	CT	P14611	2.3.1.9	41	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
		CT	Q0KBG1				
		CT	Q0KF99				
		CT	Q0K368				
		CT	Q0K469				
131	Acetyl-CoA acyl transferase	BC	A0A0H3KHB1	2.3.1.16	42	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato;	In/Ex
		BC	A0A0H3KGJ9		42		
132	Acetyl-CoA C-acetyl transferase	BC	A0A0H3KNW7	2.3.1.9	40	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
		BC	A0A0H3KRS2		41		
		BC	A0A0H3KS85		41		
133	Acetyl-CoA C-acyl transferase	CT	Q0KEF9	2.3.1.16	42	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato; Deg. Etilbenzeno	In/Ex
146	Acyl-CoA dehydrogenase	AB	Q6F7U0	1.3.8.8	44	Deg. A. Graxos	In/Ex
		CT	Q0KEG1		65		
		CT	Q0KCR3		45		
		CT	Q0KCR2		40		
		CT	Q0KBF9		68		
		CT	Q0K376		45		
		AB	Q6FEG4		65		
		AB	Q6FEG3		69		

147	Acyl-CoA dehydrogenase, short-chain specific	CT	Q0K3Z2	1.3.99.-	43	Deg. Caprolactama	
		CT	Q0K3F2		40		In/Ex
148	Acyl-CoA synthetase (Long-chain-fatty-kod--CoA ligase)	AB	Q6FFF5	6.2.1.3	62	Deg. A. Graxos	In/Ex
214	Beta-ketoadipyl CoA thiolase	CT	Q0K4S3	2.3.1.16	42	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato; Deg. Etilbenzeno	In/Ex
215	Beta-ketothiolase BktB	CT	Q0KBP1	2.3.1.9	41	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
237	Carboxymethylenebutenolidase	BC	A0A0H3KU99	3.1.1.45	26	Deg. Clorobenzeno e Clorociclohexano; Deg. Fluorobenzoato; Deg. Tolueno	In/Ex
242	Catechol 1,2-dioxygenase	BC	A0A0H3KXJ8	1.13.11.1	33	Deg. Clorobenzeno e Clorociclohexano; Deg. Benzoato; Deg. Fluorobenzoato; Deg. Tolueno; (**map01220**) Deg. Comp. Aromáticos	In/Ex
316	Efflux pump membrane transporter	CT	Q0K5D5	-	113	-	
		BC	A0A0H3KHJ6		115		
		AB	Q6F8F6		115		In/Ex
328	Enoyl-CoA hydratase	CT	Q0K371	4.2.1.17	31	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato; Deg. Aminobenzoato; Deg. Caprolactama	
		BC	A0A0H3KKC0		28		
		BC	A0A0H3KWE1		28		
		BC	A0A0H3KMI5		30		
		BC	A0A0H3KPA1		28		In/Ex
329	Enoyl-CoA hydratase/carnithine racemase	CT	Q0KAI1	4.2.1.17	27	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato; Deg. Aminobenzoato; Deg. Caprolactama	Ex
330	Enoyl-CoA hydratase/Delta(3)-cis-delta(2)-trans-enoyl-CoA isomerase	CT	Q0KBG3	1.1.1.35	75	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
334	FadE2-like Acyl-CoA dehydrogenase (ACAD)	CT	Q0KCN9	1.3.8.7	47	Deg. A. Graxos	In/Ex
335	Fatty kod oxidation complex subunit alpha	AB	Q6FF68	1.1.1.35	78	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato; Deg. Caprolactama;	In/Ex
366	Glutamine synthetase	CT	Q0K990	5.4.4.3	52	Deg. Aminobenzoato	In/Ex
371	Glutaryl-CoA dehydrogenase	CT	Q0K7X5	1.3.8.6	44	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	
		BC	A0A0H3KH47		43		In/Ex
392	Haloacetate dehalogenase	BC	A0A0H3KBF0	3.8.1.3	33	Deg. Clorobenzeno e Clorociclohexano; Deg. Cloroalcano e cloroalceno	In/Ex
440	Long-chain fatty-kod-CoA ligase	BC	A0A0H3KBP1	6.2.1.3	61	Deg. A. Graxos	In/Ex
468	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	CT	Q0KCL6	1.2.1.28	49	Deg. Xileno; Deg. Tolueno; Deg. Aminobenzoato; Deg. Comp. Aromáticos	In/Ex
470	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	BC	A0A0H3KNU6	1.2.1.3	51	Deg. A. Graxos; Deg. Cloroalcano e cloroalceno	In/Ex
591	Probable FAD-binding monooxygenase AlmA	AB	Q6F7T9	1.14.13.-	56	Deg. Aminobenzoato;	In/Ex
606	Putative 2-nitropropane dioxygenase	CT	Q7WWU7	1.13.12.16	35	-	In/Ex
607	Putative 3-hydroxybutyryl-CoA epimerase	AB	Q6F8B7	1.1.1.35	77	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato; Deg. Caprolactama;	
				4.2.1.17			
				5.1.2.3			In/Ex
612	Putative acetyl-CoA acetyl transferase (Acetoacetyl-CoA thiolase)	AB	Q6FEA0	2.3.1.9	41	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex

614	Putative acyl coenzyme A dehydrogenase (HcaD-like)	AB	Q6FA91	1.3.8.8	42	Deg. A. Graxos	In/Ex
616	Putative acyl-CoA dehydrogenase	AB	Q6FBV5	1.3.8.1	41	Deg. A. Graxos	In/Ex
619	Putative acyl-CoA dehydrogenase	AB	O31251	1.3.8.7	44	Deg. A. Graxos	In/Ex
624	Putative acyl-CoA thiolase	AB	Q6FAW1	2.3.1.9	45	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
625	Putative alcohol dehydrogenase	AB	Q6F8H1	1.1.1.1	42	Deg. A. Graxos; Deg. Cloroalcano e cloroalceno; Deg. Naftaleno; Deg. Comp. Aromáticos	In/Ex
689	Putative thiolase putative acyl-CoA thiolase	AB	Q6F8B8	2.3.1.9	42	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato	In/Ex
691	Putative toluene tolerance protein (Ttg2D)	AB	Q6F7P1	-	23	Transporte ABC	In/Ex
720	Benzaldehyde dehydrogenase II	AB	Q6FCB6	1.2.1.28	55	Deg. Xileno; Deg. Tolueno; Deg. Aminobenzoato; Deg. Comp. Aromáticos	In/Ex
757	Rubredoxin-NAD(+) reductase	AB	P42454	1.18.1.1	42	Deg. A. Graxos	In/Ex
817	Toluene tolerance efflux transporter (ABC superfamily, peri-bind)	AB	Q6F7P0	-	24	Transporte ABC	In/Ex
845	Two domain protein: 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	CT	Q0KEG0	1.1.1.35	86	Deg. A. Graxos; Deg. Benzoato;	In/Ex
886	Xenobiotic reductase	AB	Q6F723	-	39	-	In/Ex

5.6. DEGRADAÇÃO DE XENOBIÓTICOS PELO CONSÓRCIO A3

As diferentes proteínas associadas com a degradação de xenobióticos foram analisadas de acordo com as vias de degradação onde atuam e as reações químicas que catalisam nessas vias. Analisaremos inicialmente a degradação de compostos monoaromáticos, em seguida os poliaromáticos e por fim a degradação dos compostos alifáticos. Toda análise está fundamentada nas proteínas que foram identificadas e incluídas na tabela 12. Informações sobre os microrganismos na qual a proteína foi identificada, bem como o tipo de amostra da qual ela foi encontrada também é mencionada.

5.6.1. Degradação de hidrocarbonetos aromáticos monocíclicos

Foram encontradas proteínas envolvidas na degradação de 11 compostos monoaromáticos, o que é uma forte evidência da capacidade do consórcio A3 em degradar esses compostos. São eles: aminobenzoato, benzoato, caprolactama, clorociclohexano e clorobenzeno, etilbenzeno, fluorobenzoato, tolueno, *o*-xileno, *m*-xileno e *p*-xileno. A via de degradação do benzoato, inclui também uma etapa de degradação do benzeno. Note-se, portanto, que entre esses compostos aromáticos temos os quatro compostos que constituem o grupo conhecido por BTEX, acrônimo

que dá nome ao grupo de compostos formado pelos hidrocarbonetos: benzeno, tolueno, etilbenzeno e os xilenos (*o*-xileno, *m*-xileno e *p*-xileno).

5.6.1.1. Degradação de BTEX pelo consórcio A3

Para as análises sobre as vias de degradação de xenobióticos, a via esquemática de degradação do composto (obtidas a partir do *KEGG*) será apresentada, acrescentando-se algumas modificações quando necessário. Para padronizar as apresentações na figura esquemática da via, todas as enzimas representadas nas caixas de *EC number* na cor verde representam as proteínas que foram identificadas pelas análises proteômicas do consórcio A3. As em cores amarela ou laranja representam algum destaque sobre alguma enzima que não foi encontrada no consórcio A3. As linhas de contorno vermelho indicam as principais rotas de quebra do xenobiótico em questão. Pontos vermelhos representam compostos intermediários que se pretende destacar. A reação entre duas setas verdes indica a quebra de um anel aromático (figura 09). Todos os esquemas ampliados foram incluídos no apêndice 01.

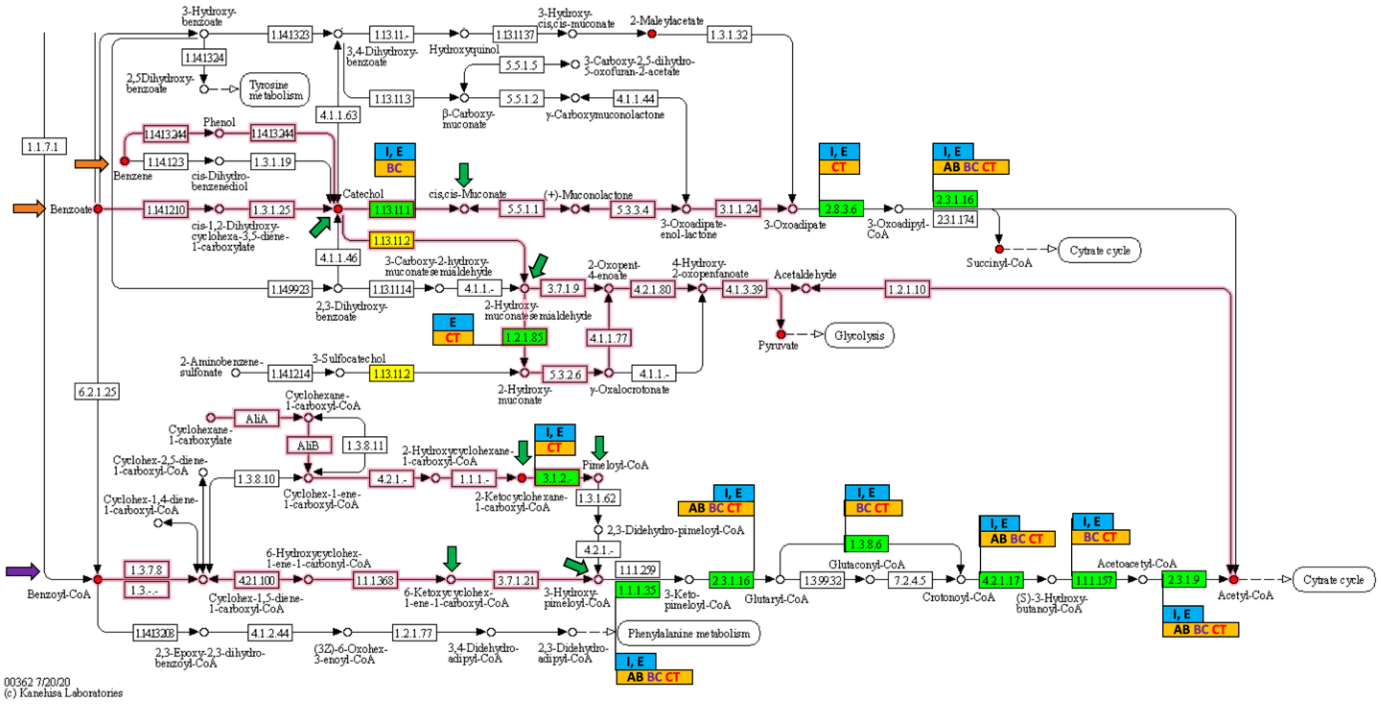


Figura 09: Via de degradação do benzoato (map00362). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas detectadas no consórcio A3, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. As

setas verdes indicam a formação de um produto a partir da quebra de um anel aromático (substrato) ao longo da via.

Foram encontradas 28 proteínas envolvidas na degradação dos BTEXs. A via em que concentrou o maior número delas foi a do benzoato, que inclui a degradação de benzeno. Para essa via foram descritas 25 proteínas, sendo que algumas delas receberam código *Uniprot* ou nomes diferentes, porém na triagem junto ao *KEGG* aparecem executando a mesma função nessa via. Essas 25 proteínas participam em 11 reações químicas na via do benzoato (figura 09).

Seguindo a reação a partir do qual o benzoato/benzeno gera catecol (setas laranja) na figura 11, foi identificada uma importante enzima envolvida na degradação de aromático: *Catechol 1,2-dioxygenase* (*EC: 1.13.11.1*). Ela é responsável pela abertura do anel aromático, e é classificada como uma dioxigenase, uma das mais importantes classes de enzimas relacionadas a degradação de compostos aromáticos (figura 10).

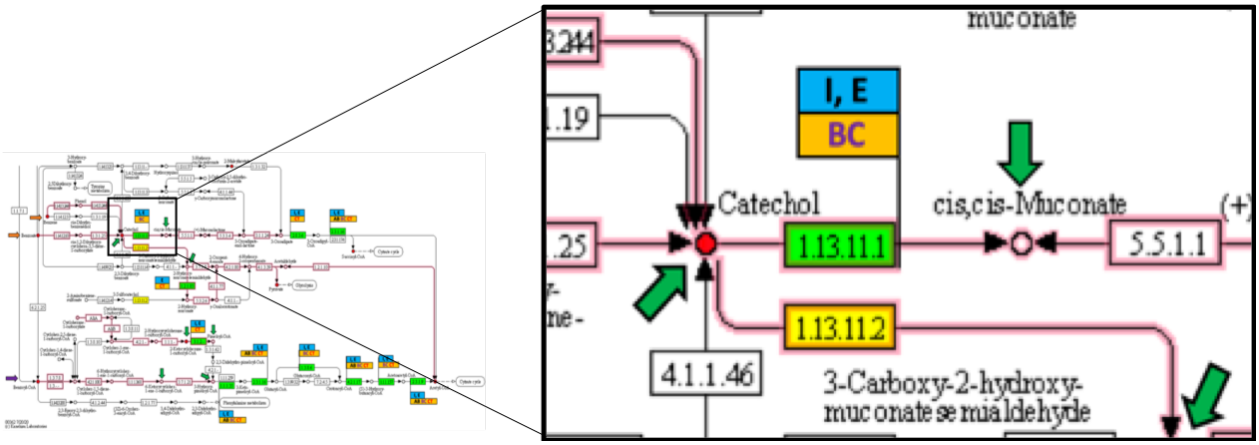


Figura 10: Ampliação de partes da via degradação do benzoato (map00362) - Destaque *Catechol 1,2 dioxygenase* (EC: 1.13.11.1). Modificada a partir do *KEGG*.

De acordo com a literatura, duas enzimas são responsáveis pela quebra do catecol: dioxigenase intra-diol (catecol 1,2 -dioxigenase – EC: 1.13.11.1) e dioxigenase extra-diol (catecol 2,3-dioxigenase – EC: 1.13.11.2). Elas promovem a quebra do anel aromático pela adição de moléculas de oxigênio. A dioxigenase catecol 1,2 -dioxigenase converte o catecol em ácido *cis, cis*-mucônico, enquanto a catecol 2,3-dioxigenase converte o catecol em semialdeído 2-hidroximucônico. O produto dessas duas reações será um hidrocarboneto linear, (ácidos carboxílicos e/ou aldeídos) que será convertido nas etapas seguintes a acetil-CoA, e em seguida, entra no sistema metabólico central da bactéria, como o ciclo de *Krebs*. A degradação completa dos compostos de hidrocarbonetos pela bactéria produzirá ATP como fonte de energia para o

metabolismo da bactéria. Essas vias também produzem CO_2 e H_2O como subprodutos, uma vez que ocorrem sob a condição aeróbia (Imron *et al*., 2020).

Os passos seguintes a partir da abertura intra-diol do anel aromático pela catecol 1,2 - dioxigenase (EC 1.13.11.1), baseado nas demais proteínas identificadas para essa rota, parecem indicar que o composto entra no ciclo de *Krebs* a partir da formação de Succinil – CoA e Acetil – CoA. Tal conclusão se baseia na identificação de 05 proteínas (36, 43, 131, 133 e 214 na tabela 12) que atuam em 02 reações (EC: 2.8.3.6 e 2.3.1.16) que antecedem a formação Succinil – CoA e Acetil – CoA a partir de reações originadas a partir de *cys*-*cys*-muconato.

A enzima *Catechol 1,2-dioxygenase* (EC: 1.13.11.1) foi identificada apenas em *B. cenocepacia*, nas amostras intra e extracelular. Porém, a presença de *2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase (EC: 1.2.1.85)*, identificada apenas para *C. taiwanensis* (figura 11), que reage sobre o 2-hidroximuconato semialdeído (produto da quebra extra-diol do catecol) sugere que *C. taiwanensis* seja capaz de produzir também a outra dioxigenase, a *Catechol 2,3-dioxygenase (EC: 1.13.11.2*) (caixas amarelas, figura 11). Seguindo esse raciocínio o catecol seria processado pela *2,3*-dioxigenase (EC: 1.13.11.2) e convertido em 2-Hidroximuconato semialdeído, que seria por sua vez, convertido em 2-Hidroximuconate pela *2-Hidroxmuconic semialdehyde dehydrogenase* (EC: 1.2.1.85), a enzima que foi encontrada em *C. taiwanensis.*

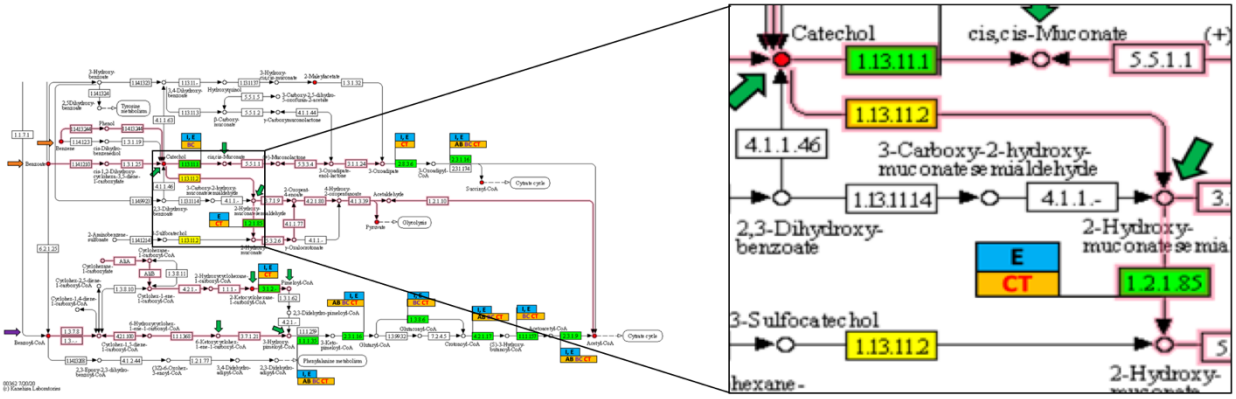


Figura 11: Ampliação de partes da via degradação do benzoato (map00362) - destaque *Catechol 2, 3 dioxygenase (EC: 1.13.11.2)*. Modificada a partir do *KEGG*.

Um isolado bacteriano degradador de fenol, *C. taiwanensis* R186, foi usado para degradar fenol em solução aquosa. A primeira etapa da biodegradação do fenol envolve a oxidação do catecol pela catecol dioxigenase, seguida por sua metaclivagem para produzir 2-hidroximuconato semialdeído como intermediário (Chen *et al*., 2008). A metaclivagem do catecol é realizada pela

catecol 2,3-dioxigenase (Van Schie *et al*., 2000). Essa evidência torna ainda mais forte a hipótese de que *C. taiwanensis* do consórcio A3 também é capaz de produzir a catecol 2,3-dioxigenase. O que tornaria o consórcio A3 capaz de produzir as duas mais importantes dioxigenases envolvidas na quebra de anéis aromáticos.

A segunda parte da via (a partir de benzoil-CoA, seta roxa, figura 09) consiste na via de degradação anaeróbia do benzoato. Compostos aromáticos estruturalmente diversos são processados por bactérias por meio de vias de degradação periférica para formar benzoil coenzima A (benzoil-CoA), que não necessita de oxigênio para sofrer a quebra o anel aromático (Hirakawa *et al.*, 2015). A benzoil-CoA é um intermediário central no catabolismo anaeróbico da maioria dos compostos aromáticos (Leuthner e Heider, 2000).

Para essa parte da via foram identificadas 21 proteínas (1, 26, 28, 30, 31, 36, 130, 131,132, 133, 214, 215, 328, 329, 330, 335, 607, 612, 624, 689, 845 na tabela 12) que atuam em 07 reações diferentes na etapa que degradação do benzoato. A reação de quebra do anel aromático, na ausência de oxigênio nessa via, é realizada por uma enzima que foi encontrada apenas em *C. taiwanensis* (intra e extracelular). Tal reação converte *2-Ketocyclohexane-1-carboxyl-CoA* em *Pimeloil-CoA*, e é catalisada pela *1,4-dihydroxy-2-naphthoyl-CoA synthase (EC: 3.1.2.-)* (figura 12).

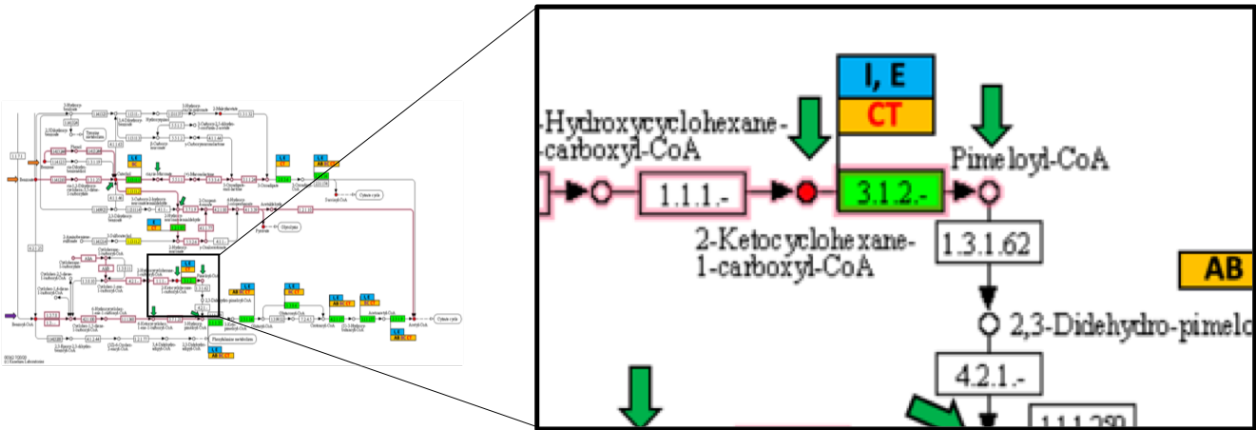


Figura 12: Ampliação de partes da via degradação do benzoato (map00362) - destaque quebra anaeróbica. Modificada a partir do *KEGG*.

As demais reações da via convertem o pimeloil-CoA em acetil-CoA e CO_2, que são catalisadas por enzimas encontradas em pelo menos duas bactérias do consórcio, nas amostras intra e extracelular. A via de degradação anaeróbica do benzoato envolve uma desaromatização de benzoil-CoA pela benzoil-CoA redutase seguida por uma *β*-oxidação do produto reduzido,

ciclohex-1-enecarboxil-CoA. Isso culmina em uma clivagem do anel que gera pimeloil-CoA que é posteriormente degradado em três unidade de acetil-CoA e um CO_2 (Hirakawa *et al.*, 2015).

Portanto, a quebra de benzoato/benzeno pelo consórcio A3 parece seguir duas rotas (figura 13): 1ª) Aeróbica, que envolve a ortoclivagem do catecol – e uma possível metaclivagem por *C. taiwanenses* – e termina com a formação succinil – CoA e acetil – CoA, dois intermediários do clico de *Krebs*; 2ª) Anaeróbica, com a quebra do anel aromático para formação pimeloil-CoA e culmina na formação acetil – CoA. Evidências encontradas sugerem a existência de uma terceira rota (metaclivagem), porém a enzima-chave nessa rota não foi identificada. Quanto aos microrganismos, *C. taiwanensis* aparece realizando 10 das 11 reações encontradas para essa via, sendo 3 delas exclusivas para essa espécie, que inclui a própria clivagem do anel aromático na ausência de oxigênio. A *B. cenocepacia* aparece em 8 reações, sendo 1 delas exclusiva, e envolve a quebra do anel aromático na presença de oxigênio. E finalmente, *A. baumannii* envolvida em 5 reações, nenhuma exclusiva. Além disso, é possível perceber o sinergismo entre as espécies presentes no consórcio. A exemplo disso podemos citar as quebras de anel aromático. A quebra do anel é realizada por uma única bactéria, porém as reações seguintes podem catalisadas por enzimas que foram encontradas para duas ou três espécies. Isso sugere a capacidade das espécies atuarem de modo conjunto para degradar completamente um determinado composto ou torna-lo menos tóxico.

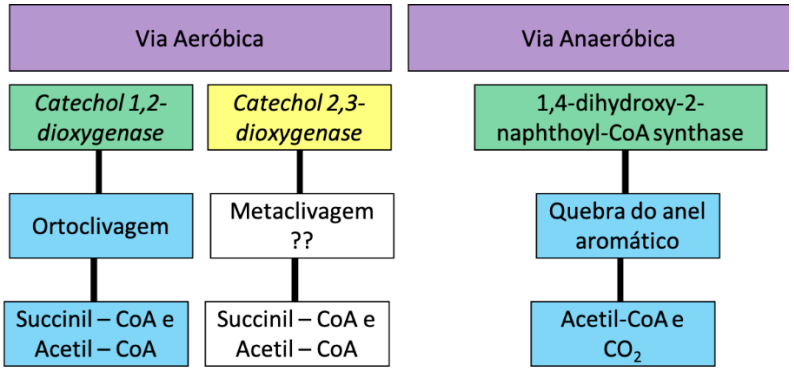


Figura 13: Esquema das rotas de quebra do benzoato pelo consórcio A3. Verde - enzimas-chave da via (identificadas); Azul – mecanismo de quebra e produto final da via; Amarelo – enzima-chave da via (não identificadas), seguido da reação e produtos finais (em branco).

Para via de degradação do tolueno, foram identificadas 04 proteínas que atuam em 05 reações na via de degradação desse composto (figura 14). A ocorrência dessas enzimas, sugerem dois caminhos para a degradação do tolueno, de acordo como o microrganismo que estamos tratando.

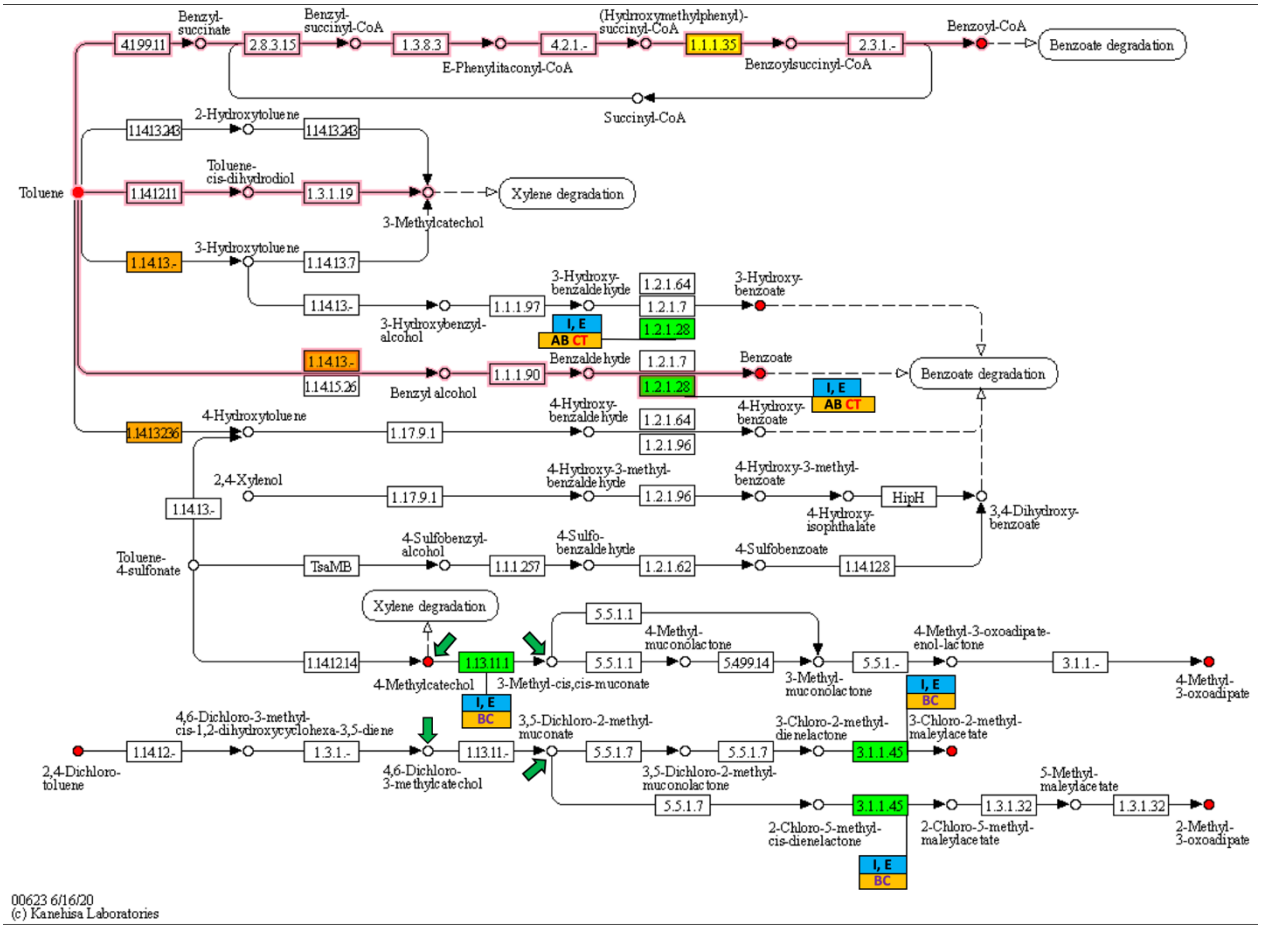


Figura 14: Via de degradação do tolueno (map00623). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. As setas verdes indicam a formação de um produto a partir da quebra de um anel aromático (substrato) ao longo da via.

Em *A. baumannii* e *C. taiwanensis*, a identificação de *Benzaldehyde dehydrogenase II (EC: 1.2.1.28)* e *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase (EC: 1.2.1.28*), sugere que o tolueno tende a sofrer quebras até se tornar 3-hidroxibenzoato ou o próprio benzoato, que seguiriam direto para via de degradação do benzoato (figura 15). Já em *B. cenocepacia*, a presença da *Catechol 1,2-dioxygenase (EC: 1.13.11.1)* sugere que o tolueno irá formar de 4-Metil-3-oxoadipato, produto que não interage com mais nenhuma via metabólica descrita no *KEGG* (figura 14). Porém, é sabido que o 3-oxoadipato na presença de NAD+ é convertido em maleilacetato, intermediário da via do benzoato. Contudo, não se tem evidências de que o mesmo acontece para o oxoadipato metilado, bem como a perda da metilação e como essa reação ocorreria.

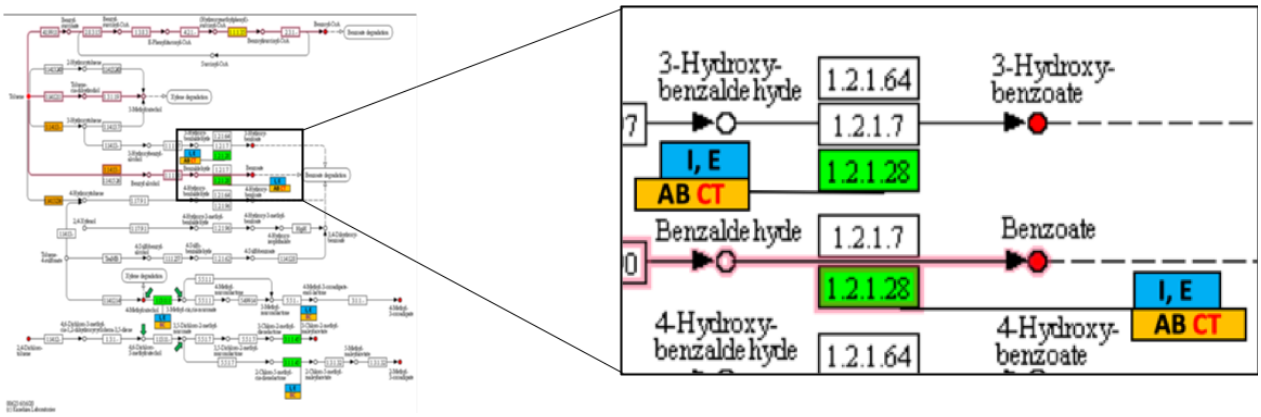


Figura 15: Ampliação de partes da via degradação do tolueno (map00623) - destaque formação de benzoato. Modificada a partir do *KEGG*.

A presença de *Carboxymethylenebutenolidase* (EC: 3.1.1.45), também em *B. cenocepacia* (últimas reação na parte inferior da figura 14) sugere a conversão do tolueno em outros dois produtos que não são intermediários de outras vias metabólicas, de acordo com o *KEGG*. Temos, portanto, *A. baumannii* e *C. taiwanensis* provendo a transformação dos intermediários da via do tolueno em produtos que vão prosseguir para via de degradação aeróbica do benzoato, e *B. cenocepacia* formando compostos que não tem relação com outras vias metabólicas descritas. Outro aspecto chama atenção para essa via. *A. baumannii* e *C. taiwanensis* aparecem atuando diretamente na degradação do tolueno, enquanto que *B. cenocepacia* aparece atuando apenas nas vias mais periféricas onde o tolueno aparece sulfonado ou clorado (tolueno-4-sulfonato e 2,4 dicloro-tolueno).

Ainda em relação a essa via do tolueno, uma única monooxigenase com *EC:1.14.13.236 e 1.14.13.*- aparece realizando 3 reações da quebra do tolueno (figura 14, caixas laranjas). As monooxigenases são enzimas que catalisam a inserção de um único átomo de oxigênio do O_2 em um substrato orgânico. Entre as enzimas que tem relação como a degradação de xenobióticos foi identificada para *A. baumannii* uma provável monooxigenase de mesmo *EC number* (1.14.13.-), porém dependente de flavina, a *Probable FAD-binding monooxygenase AlmA* com 56 kDa. Essa provável monooxigenase está intimamente envolvida na oxidação de alcanos de cadeia longa (Throne-Holst *et al*., 2007; Liu *et al*., 2021). A ação dessa enzima em específico envolvendo a degradação de tolueno não foi relatada. Isso provavelmente seja explicado pelo fato das monooxigenases serem altamente quimio-, regio- e/ou enantiosseletivas (Pazmiño *et al*., 2010).

Para degradação de etilbenzeno foram identificadas duas enzimas da última etapa da via de degradação, todas em *C. taiwanensis* em amostra intra e extracelular. A *Acetyl-CoA C-acyltransferase* (*EC: 2.3.1.16*) e a *Beta-ketoadipyl CoA thiolase* (*EC: 2.3.1.16*) executam o mesmo passo via de degradação do etilbenzeno. Ambas convertem o benzoilacetil-CoA em benzoil-CoA e acetil-CoA. O primeiro, entra na via de degradação anaeróbica do benzoato (2ª rota proposta aqui anteriormente na via do benzoato), que conta com a ação de 21 proteínas envolvidas, e o segundo, é intermediário do metabolismo central (figura 16). Por essa via, o benzoil-CoA é clivado em hidrocarbonetos de cadeia curta seguido por mineralização passo a passo para CO_2 (Li *et al.,* 2021).

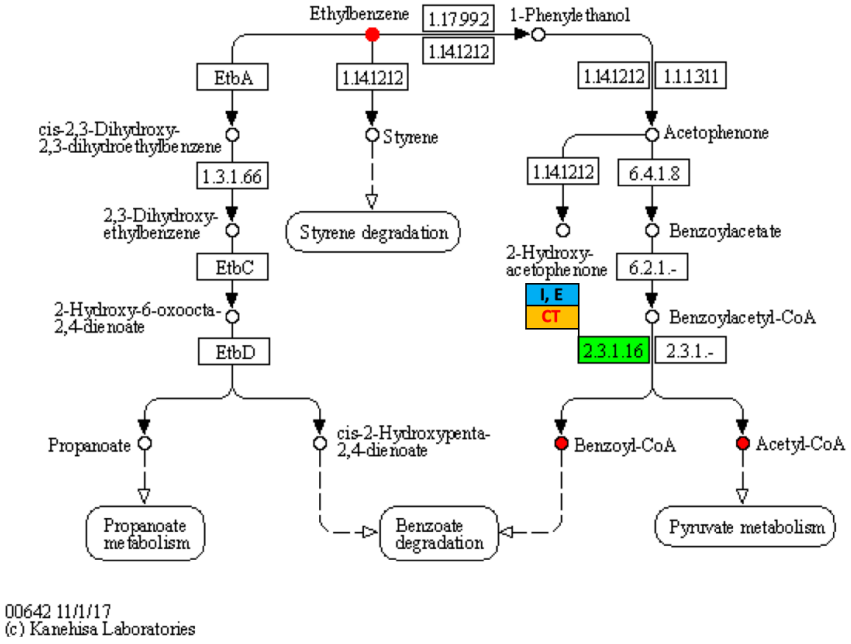


Figura 16: Via de degradação do etilbenzeno (map00642). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

E fechando a degradação dos BTEXs, analisaremos a via de degradação dos xilenos (*o*-, *m*- e *p*-xileno) (figura 17). Foram identificadas 3 enzimas para degradação do xileno, duas delas podem executar um dos primeiros passos da reação de quebra das três formas de xileno.

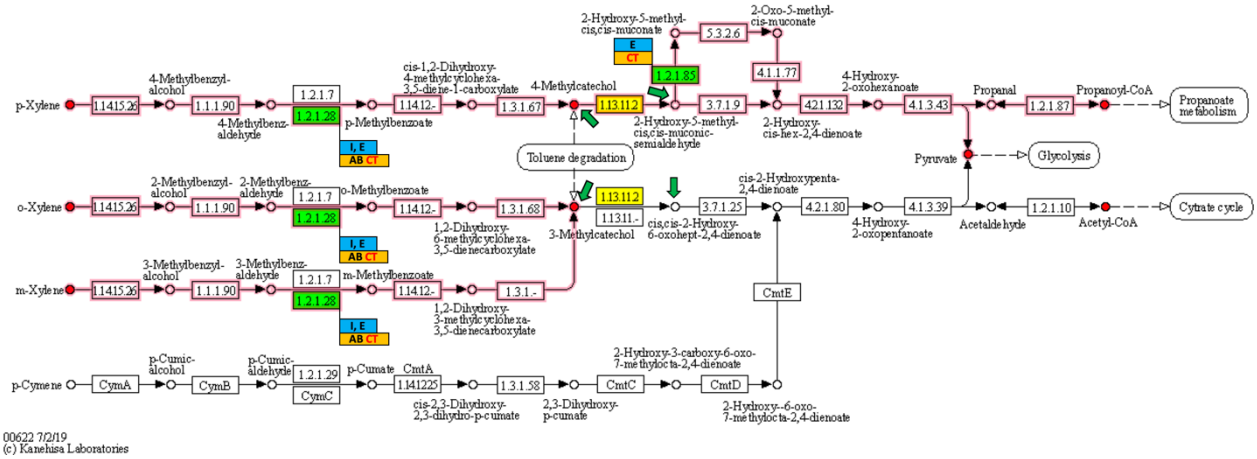


Figura 17: Via de degradação de *p*-, *o*-, e *m*-xileno (map00622). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. As setas verdes indicam a formação de um produto a partir da quebra de um anel aromático (substrato) ao longo da via.

Em *A. baumannii* foi encontrado a *Benzaldehyde dehydrogenase II (EC: 1.2.1.28),* com 49 kDa, e em *C. taiwanensis* foi identificada a *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase (EC: 1.2.1.28)*, com 55 kDa. Essas duas enzimas estão envolvidas também na degradação do tolueno como já foi citado. Em xileno, ambas reagem sobre seus respectivos substratos para formação de *o*-, *m*- e *p*-metilbenzoato (figura 18). Embora identificadas com nomes diferentes, o KEGG *Orthology* classifica as duas enzimas com o mesmo código (K00141) benzaldeído desidrogenase (NAD).

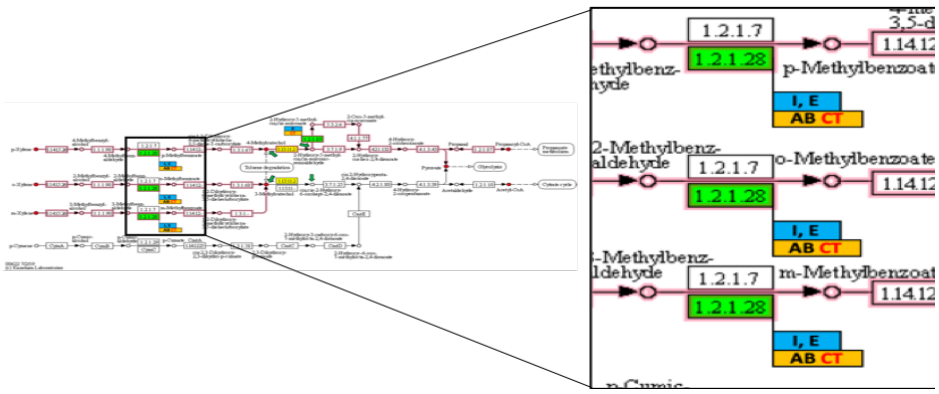


Figura 18: Ampliação de partes da via degradação do xileno (map00623) - destaque formação de metilbenzoato. Modificada a partir do *KEGG*

A terceira enzima identificada para degradação de xileno, foi a *2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.85),* encontrada apenas em *C. taiwanensis.* Na via de degradação do *p*-xileno, a *2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase* realiza a reação imediatamente posterior à executada pela catecol 2,3 dioxigenase (caixas amarelas, figura 14), que promove a quebra do anel aromático. Ou seja, catecol 2,3 dioxigenase produz o substrato para a reação da *2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase*. Isso reforça nossa hipótese, quando tratávamos da via do benzoato, que a catecol 2,3 dioxigenase também é produzida por *C. taiwanensis.* Podendo ser, inclusive, as duas codificadas em um único *operon*, a exemplo do que acontece em *Paenibacillus sp.* Essa mesma desidrogenase encontrada é codificada em *Paenibacillus sp*. JJ-1b pelo gene *praB* presente em um *operon* que codifica 6 outras enzimas envolvidas na degradação do xileno. Um dos genes desse *operon* é o *praA*, que codifica a catecol 2,3 dioxigenase (Kasai *et al.,* 2009). Os produtos finais da via de degradação do xileno podem ser o piruvato, intermediário da via glicolítica, e propanoil – CoA, que entra na via do propanoato.

Em resumo, temos *C. taiwanensis e A. baumannii* produzindo proteína capazes de realizar um passo inicial na via de degradação de todas as isoformas de xileno. Em um passo posterior, *C. taiwanensis* produz enzima que reage com o produto da reação catalisada por catecol 2,3 dioxigenase, reforçando que a presença dessa enzima na espécie. *B. cenocepacia* parece não ter envolvimento nessa via.

5.6.1.2. Degradação de outros compostos monoaromáticos pelo consórcio A3

Além dos BTEXs, o consórcio A3 consegue metabolizar outros compostos aromáticos, entre eles clorociclohexano e clorobenzeno. Esses compostos aromáticos clorados, são em sua maioria derivados dos inseticidas organoclorados usados na agricultura. Embora proibidos na maioria dos países nos últimos 20 anos, os métodos avançados para o tratamento eficaz de seus resíduos em águas naturais ainda são motivo de interesse devido à sua grande persistência. Os produtos de degradação intermediários desses inseticidas são classificados nas seguintes categorias químicas: clorociclohexanos, clorociclohexenos, clorobenzenos, clorofenóis, cloropropanos, cloropropanonas e o isômero pentaclorociclohexanona (Konstantinou e Albanis, 2003).

Para a via de degradação desses dois compostos foram identificadas 3 enzimas, todas em *B. cenocepacia,* amostra intra e extracelular. Uma delas, a *Carboxymethylenebutenolidase (EC: 3.1.1.45),* aparece executando 5 reações nas vias de degradação dos mais variados aromáticos

clorados (figura 19). Todas as reações dessa enzima, independente do substrato que esteja convertendo, leva a formação de maleilacetato, que é um intermediário, da via de degradação aeróbica do benzoato (figura 09). E isso é um indicativo de que a degradação desses compostos aromáticos clorados pelo consórcio A3 pode resultar na formação de succinil-CoA e acetil-CoA, gerando com isso carbono e energia para as células. Mais uma vez o sinergismo entre as espécies do consórcio pode ser observado: *B. cenocepacia* atua sobre os organoclorados, que são convertidos em subprodutos da via do benzoato, e lá eles podem ser convertidos pela ação das enzimas das outras espécies, como já descrito anteriormente.

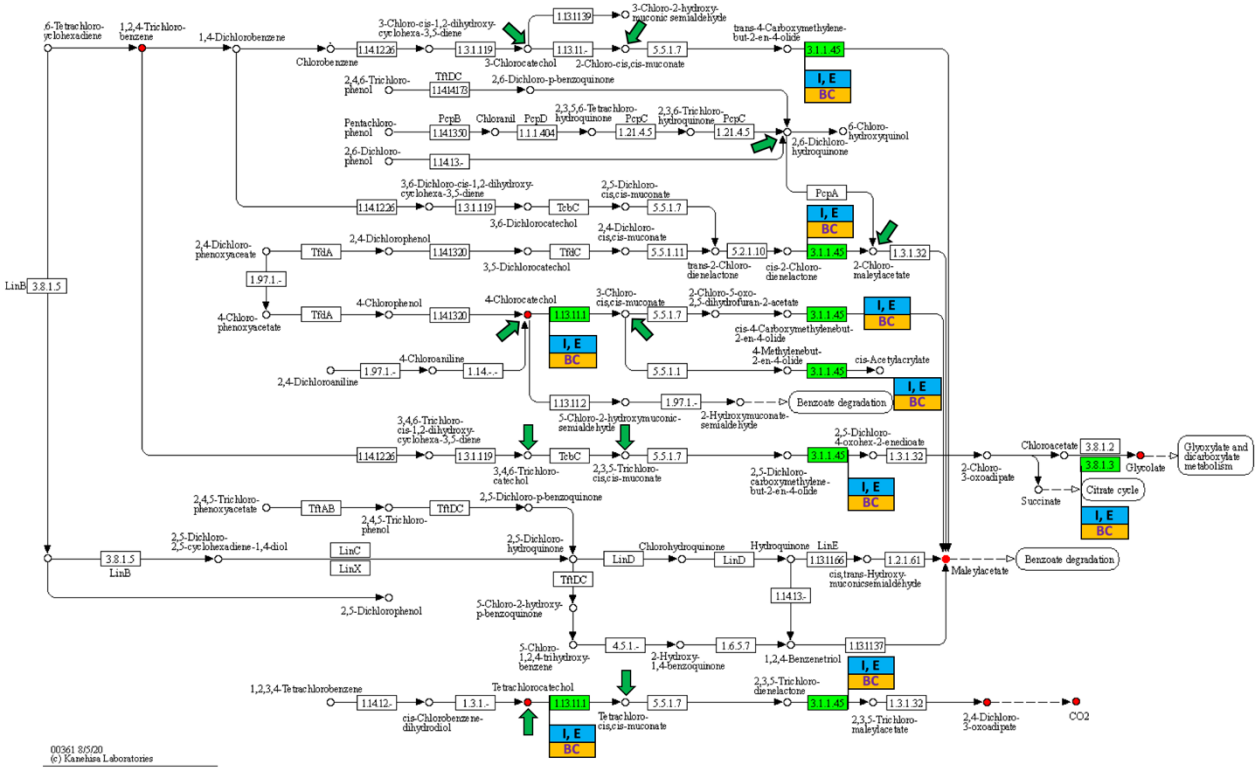


Figura 19: Via de degradação de clorociclohexano e clorobenzeno (map00361). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; BC – *B. cenocepacia*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas Pontos vermelhos são compostos importantes na via. As setas verdes indicam a formação de um produto a partir da quebra de um anel aromático (substrato) ao longo da via.

A *Catechol 1,2-dioxygenase (EC: 1.13.11.1)* também aparece nessa via executando duas reações de quebra de anéis aromáticos do 4-Clorocatecol e do Tetraclorocatecol. As etapas seguintes de quebra do primeiro composto levam à formação de maleilacetato, como já mencionado, e para o segundo composto o ocorre a formação de 2,4-Dicloro-3-oxoadipato e CO_2. E finalmente, a terceira enzima identificada, a *Haloacetate dehalogenase (EC: 3.8.1.3)* catalisa a

última reação na quebra do 1,2,4-Triclorobenzeno. Por essa reação, o cloroacetato é convertido em glicolato, que entra na via do glioxilato. O ciclo glioxilato permite que as células convertam duas unidades de acetil-CoA geradas por vários processos catabólicos em unidades C4 (succinato) que podem ser usadas para repor o ciclo de *Krebs* ou para funcionar como precursores da biossíntese de aminoácidos ou biossíntese de carboidratos. Assim, o ciclo de glioxilato serve como um elo entre as atividades catabólicas e as capacidades biossintéticas, permitindo que as células utilizem ácidos graxos ou unidades de C2, como etanol ou acetato, como única fonte de carbono (Kunze *et al*., 2006). Algumas bactérias quando cultivadas na presença de xenobióticos utilizam preferencialmente a via do glioxilato para obtenção de energia, como é o caso da *P. putida* KT2440 quando cultivada na presença de fenol (Guazzaroni *et al*., 2013).

Pelos resultados obtidos, sugere-se que o consórcio A3 é capaz de degradar fluorobenzoatos (Figura 20). A reação principal de quebra dessa molécula é também a abertura do anel benzênico. A catecol dioxigenase (EC: 1.13.11.1) encontrada em *B. cenocepacia* consegue realizar essa quebra. A ação da enzima é demandada em dois pontos da via. No primeiro, promove a abertura intra-diol do anel aromático de 3 – fluorocatecol, proveniente das modificações de 2-fluorbenzoato ou 3-fluorbenzoato. Sua outra ação é converter o 4 – fluorocatecol advindo de fluorobenzoato ou 4-fluorbenzoato. Os produtos dessas duas quebras são 2- ou 3-fluoro-*cis, cis*-muconato. No final da via foi encontrada também outra enzima. *Carboxymethylenebutenolidase (EC: 3.1.1.45)*, capaz de produzir o maleilacetato, o qual entra na via do benzoato que, como já descrito, poderá ser convertido em energia para célula. A *Carboxymethylenebutenolidase (EC: 3.1.1.45)* também foi identificada apenas em *B. cenocepacia.* Não foram encontradas enzimas de *A. baumannii* e *C. taiwanensis* participando nessa via (figura 20).

Os produtos químicos fluorados são xenobióticos proeminentes utilizados em aplicações farmacêuticas, agrícolas e outras aplicações industriais devido à sua estabilidade térmica, lipofilicidade aprimorada e capacidade de suprimir a desintoxicação metabólica, aumentando assim o tempo de permanência *in vivo* (Natarajan *et al*., 2005). A presença de compostos orgânicos fluorados no meio ambiente aumentou drasticamente como resultado do aumento significativo na produção de uma ampla gama de produtos farmacêuticos e agroquímicos fluorados desenvolvidos devido às propriedades únicas e desejáveis do flúor (Misiak *et al*., 2011).

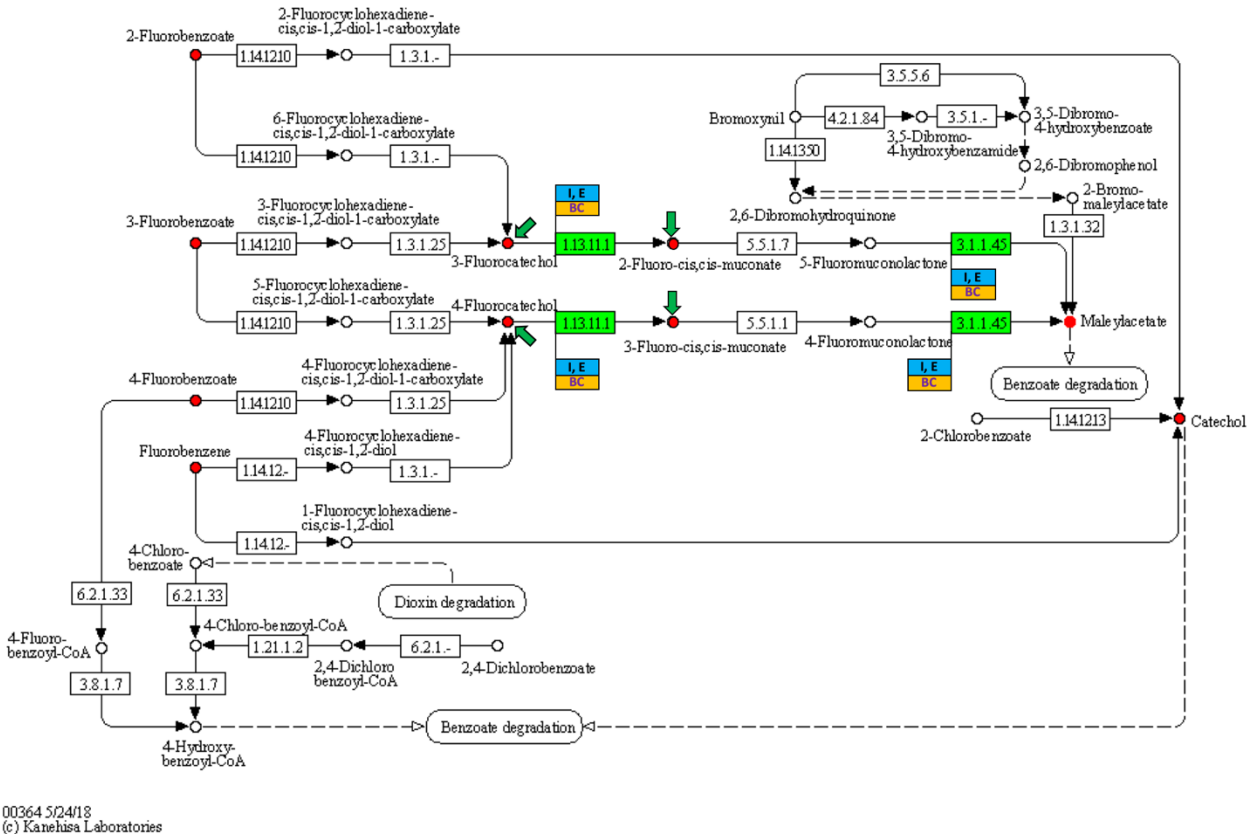


Figura 20: Via de degradação de fluorobenzoato (map00364). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; BC – *B. cenocepacia*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. As setas verdes indicam a formação de um produto a partir da quebra de um anel aromático (substrato) ao longo da via.

Também foi verificada a presença de enzimas capazes de degradar aminobenzoatos no consórcio A3. Para essa classe de compostos foram identificadas 6 enzimas atuando em 7 reações na via de degradação (figura 21). A primeira delas, a *Probable FAD-binding monooxygenase AlmA (EC: 1.14.13.-),* enzima da classe das monooxigenases que realiza os dois passos iniciais para quebra da tiobenzamida. As oxidações seguidas transformam esse composto em benzonitrila, que sofre algumas reações até se tornar benzoato.

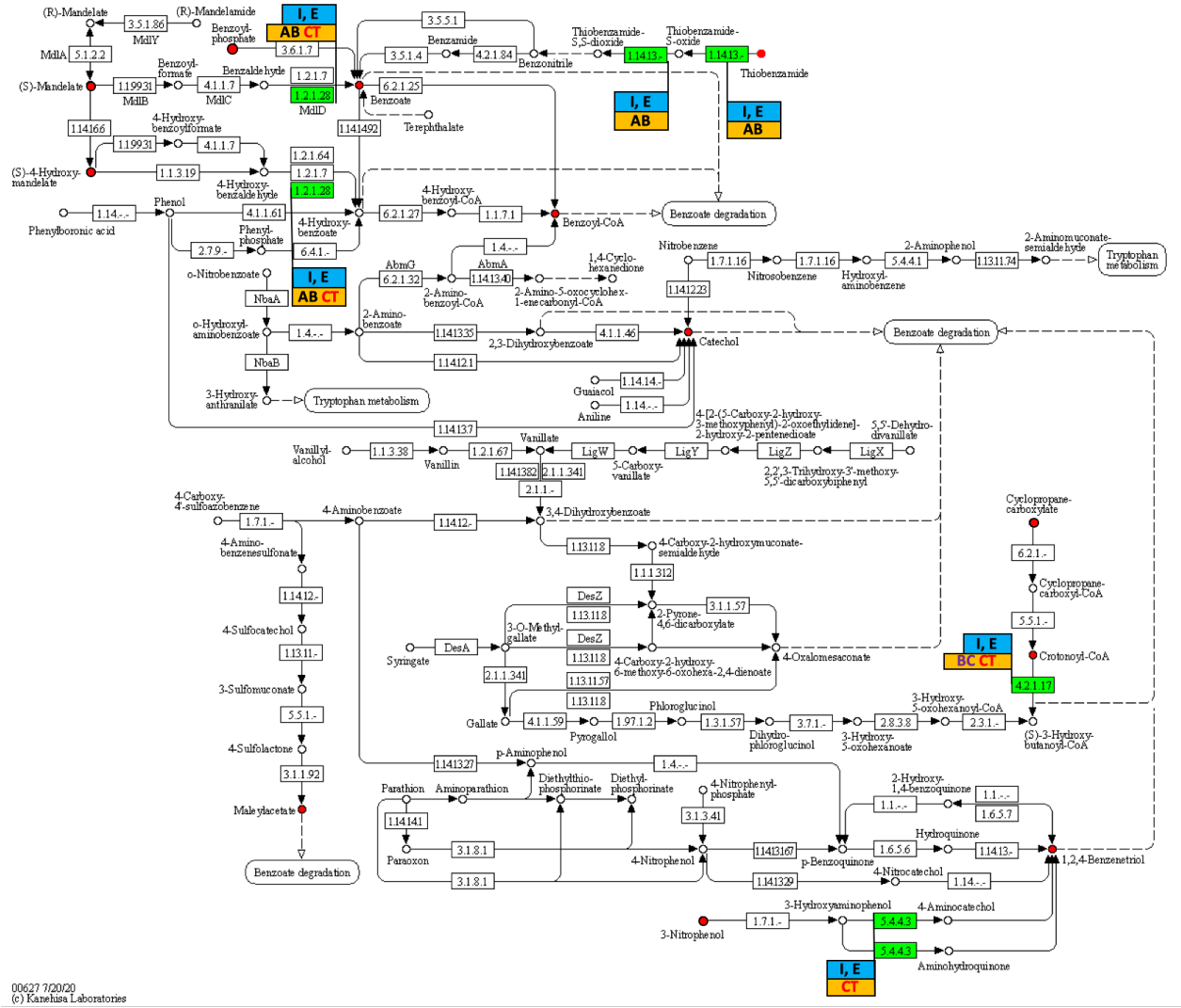


Figura 21: Via de degradação de aminobenzoato (map00627). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Ação da *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase (EC:1.2.1.28)* de *C. taiwanensis* e *A. baumannii*, ou *Benzaldehyde dehydrogenase II (EC:1.2.1.28)* de *A. baumannii* na rota de (S) – Mandelato produz benzoato, na rota de (S)-4-Hidroxi-mandelato produz 4-Hidroxi-benzoato, e ambos entram na via de quebra do benzoato. Pela via do cloropropano-carboxilato foram encontradas as enzimas *Enoyl-CoA hydratase (EC: 4.2.1.17)* e *Enoyl-CoA hydratase/carnithine racemase (EC: 4.2.1.17),* de *C. taiwanensis* e *B. cenocepacia*, que tem ação sobre o crotonoil-CoA, intermediário da via de degradação do benzoato. Finalmente, pela via do 3-nitrofenol, a *Glutamine*

synthetase (EC: 5.4.4.3) de C. taiwanensis modifica o 3-hidroxiaminofenol. Produto final nessa via é o 1,2,4 – benzenotriol, também intermediário na via de degradação do benzoato.

5.6.2. Degradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Para a classe de hidrocarbonetos poliaromáticos, uma única enzima foi encontrada para a via de degradação do naftaleno. Uma álcool desidrogenase encontrada em *B. cenocepacia* atua na via de degradação desse composto, a *Putative alcohol dehydrogenase (EC: 1.1.1.1)* (figura 22).

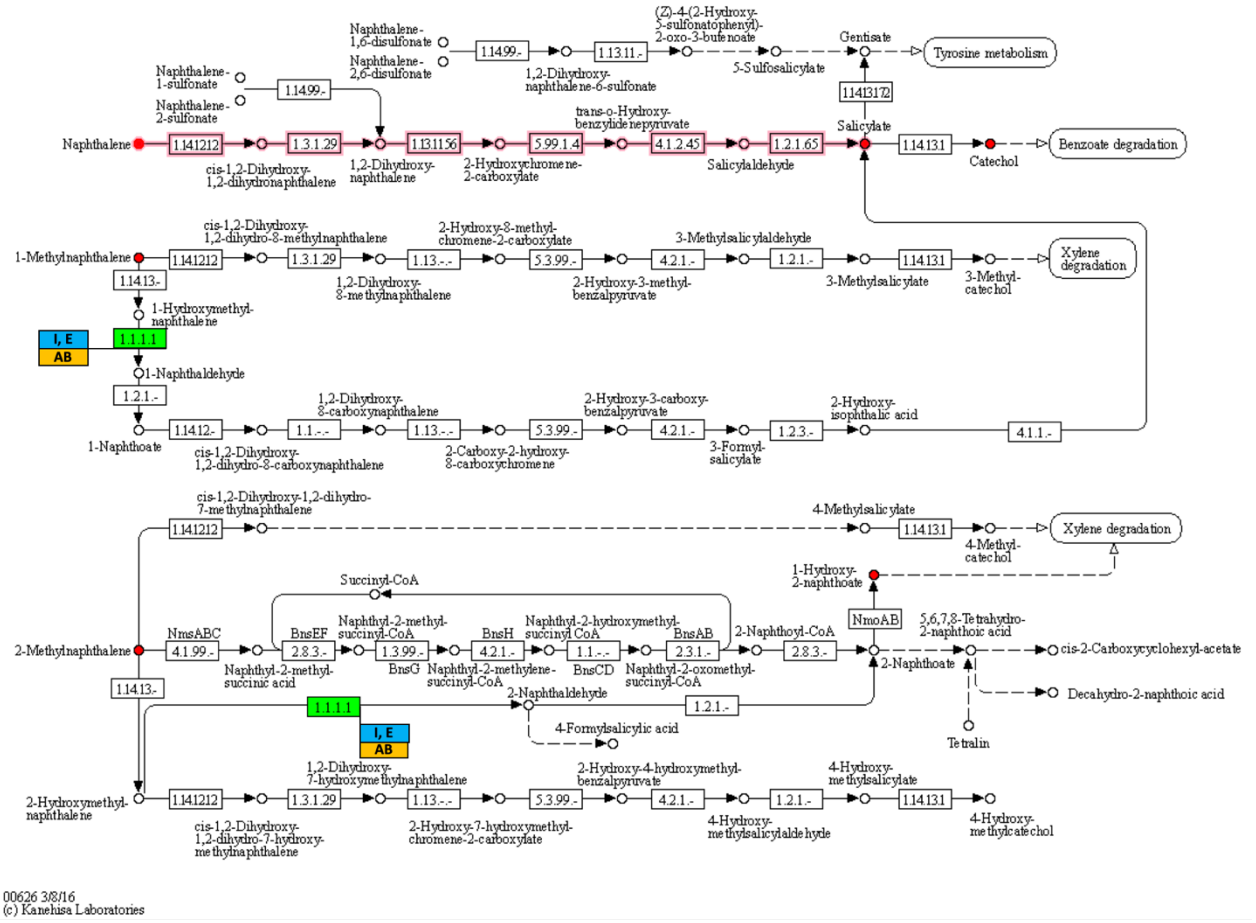


Figura 22: Via de degradação de naftaleno (map00627). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Essa enzima participa em duas vias distintas que geram produtos intermediários diferentes e entram em outras vias metabólicas também distintas. Por exemplo, na reação em que essa álcool desidrogenase atua na via de 1 – metilnaftaleno, ela converte 1 – hidroximetil-naftaleno em 1-naftaldeído. O produto final dessa via é o catecol, que pode ser quebrado aerobiamente na via do

benzoato, ou gentisato que entra para o metabolismo da tirosina. Já na outra via do 2 – metilnaftaleno, converte 2 – hidroximetil-naftaleno em 2 -naftaldeído, e o produto final da via é o 1-hidrox-2-naftanoato que entra na via degradação do xileno.

O naftaleno é o composto de PAH mais simples e biodegradável que consiste em dois anéis aromáticos fundidos. Por ser o composto de PAH mais simples, também é encontrado em abundância devido aos processos de degradação natural de compostos de PAH mais complexos encontrados em óleos crus. É a molécula de PAH mais solúvel e pode ser encontrada adsorvida ao solo e em solução em áreas úmidas contaminadas por derramamentos industriais ou de transporte. É um poluente prioritário de acordo com o EPA/US devido à sua conhecida toxicidade para formas superiores de vida. *P. putida* pode metabolizar prontamente o naftaleno começando com uma reação mediada por dioxigenase para formar *cis*-naftaleno dihidrodiol e eventualmente catecol (Purwaningsih *et al*., 2004).

5.6.3. Degradação de hidrocarbonetos alifáticos

Considerando então que a degradação de hidrocarbonetos alifáticos está intimamente relacionada à *β*-oxidação de ácidos graxos, incluímos na nossa análise todas as proteínas desta via. Foram identificadas 29 proteínas que estão relacionadas com degradação de ácidos graxos (figura 23), e podem realizar as quatro reações da via que se repetem até a completa degradação da cadeia carbônica do ácido graxo. Considerando as três espécies do consórcio, todas as proteínas da via de *β*-oxidação foram encontradas. Separadamente, apenas em *B. cenocepacia* não foi identificada a proteína da primeira reação da via (EC: 1.3.8.7 ou 1.3.8.8 ou 1.3.99.-). Essa reação inicial envolve uma das acil-coA desidrogenase que introduz uma ligação dupla na posição C2 do ácido graxo, produzindo ésteres 2-enoil-coA (Adeva-Andany *et al.*, 2019).

A quantidade de proteínas encontradas para as três espécies, considerando toda a via de degradação, foi de 15 para *C. taiwanensis*, 14 para *A. baumannii* e 09 para *B. cenocepacia.* O esquema representativo das proteínas encontradas e sua procedência em relação às amostras e aos organismos onde foram rastreadas estão indicados na figura 23.

Além das proteínas que atuam diretamente na *β*-oxidação dos ácidos graxos, outras proteínas diretamente envolvidas na conversão de alcanos foram identificadas. A primeira reação da etapa de conversão dos alcanos é sua conversão a um álcool (Imron *et al*., 2020). Essa etapa é catalisada por uma alcano 1-monooxigenase (EC: 1.14.15.3) (caixas *EC* amarelas, figura 23) e duas

outras proteínas acessórias, a rubredoxina (EC: 1.18.1.3) (caixa *EC* laranja, figura 23) e rubredoxina redutase (EC: 1.18.1.1). As duas primeiras não foram encontradas em nossas análises, apenas a *Rubredoxin-NAD(+) reductase (EC:1.18.1.1)*. O papel dessa enzima em específico é reduzir a rubredoxina por oxidação de NADPH, e a rubredoxina reduzida, por sua vez transfere os elétrons para a alcano monooxigenase.

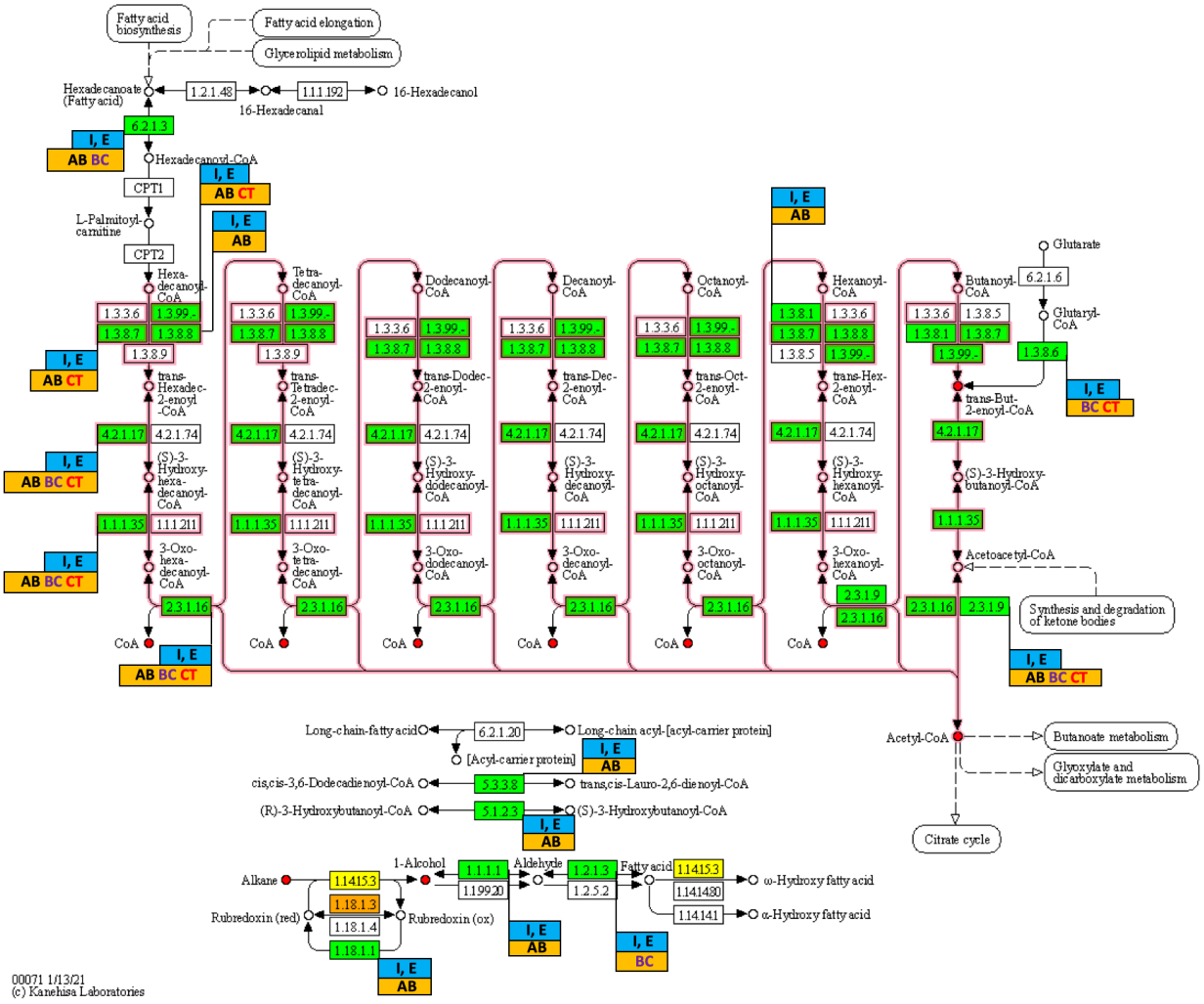


Figura 23: Via de degradação ácidos graxos (map00071). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho representa a via de *β*-oxidação dos ácidos graxos. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

Existem dois genes de alcano monooxigenase anotados, chamados *alkB1* e *alkB2*, no genoma de *Alcanivorax borkumensis* (Schneiker *et al*., 2006). Alcano hidroxilase-1 (AlkB1) oxida eficientemente alcanos de cadeia média entre C5-C12, enquanto alcano hidroxilase-2 (AlkB2)

oxida alcanos de cadeia entre C8-C16. Ambos AlkB1 e AlkB2 são monooxigenases diferro e atuam na membrana das células. Essas enzimas têm potencialmente inúmeras aplicações na transformação de hidrocarbonetos (Eidani *et al*., 2011). Duas proteínas acessórias, rubredoxina e rubredoxina redutase, fornecem o equivalente redutor da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH) para as hidroxilases. A rubredoxina redutase catalisa a redução da rubredoxina por oxidação de NADPH, e a rubredoxina transfere os elétrons para a hidroxilase de alcano. Essas proteínas todas assumem o papel na hidroxilação de diferentes alcanos lineares ou ramificados (Miri *et al.,* 2010).

Apesar do sistema AlkB não ter sido encontrado completo, as demais proteínas encontradas para via dos alcanos sugerem fortemente a capacidade de *A. baumannii* do consórcio A3 em metabolizar alcanos. A *Putative alcohol dehydrogenase (EC: 1.1.1.1)* é uma enzima que realiza a etapa seguinte de degradação de alcanos nesse sistema. Ela foi encontrada também apenas em *A. baumannii*. É responsável pela transformação do álcool formado em aldeído. E a proteína responsável por converter o aldeído em ácido graxo é uma aldeído desidrogenase (EC: 1.2.1.3). Foi encontrada uma única *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase* (EC: 1.2.1.3) em *B. cenocepacia* capaz de realizar essa última reação no sistema.

Outra enzima encontrada que tem ligação direta com a degradação de alcanos foi a *Probable FAD-binding monooxygenase AlmA (EC: 1.14.13.-).* Essa é uma monooxigenase relacionada à família *AlmA* de ligação à flavina que está envolvida na degradação de uma ampla gama de alcanos de cadeia longa (Zadjelovic *et al*., 2020). O gene *almA* de *Alcanivorax dieselolei* B-5 foi expresso de maneira heteróloga em *P. fluorescens* KOB2Δ1 e os níveis de expressão de mRNA *almA* aumentaram na presença de *n*-alcanos de cadeia longa (C_{22}-C_{36}) e além disso, alcanos ramificados (pristano e fitano) elevaram significativamente os níveis de expressão *almA* (Liu *et al*., 2011).

Vários sistemas alcano hidroxilases podem coexistir em uma única bactéria. Pelo menos duas alcano hidroxilases do tipo *AlkB* (AlkMa e AlkMb) e um do tipo *AlmA* estão presentes em *Acinetobacter sp.* estirpe DSM17874 e são responsáveis pela degradação de alcanos com diferentes comprimentos de cadeia. *Alcanivorax dieselolei* B-5 pode degradar uma ampla gama de alcanos (C5-C36), com quatro alcano hidroxilases, *AlkB1, AlkB2, CYP153 e AlmA* que podem ser co-expressos na presença de alcanos (Liu *et al*., 2021). Nossos resultados sugerem a presença de pelo

menos dois sistemas de alcano hidroxilase, *AlkB* e *AlmA,* garantindo a utilização de *n*-alcanos de uma ampla faixa de comprimento de cadeia, inclusive os ramificados.

E finalizando a análise de degradação compostos alifáticos, foram encontradas evidências da utilização de cloroalcanos e cloroacenos por essas bactérias. As formas *cis* e *trans* do Dicloropropeno podem sofrer ação de duas enzimas encontradas, as já citadas *Putative alcohol dehydrogenase* (EC: 1.1.1.1), de *A. baumannii*, e a *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase (EC: 1.2.1.3)* de *B. cenocepatia.* O produto final da via é o acetaldeído que entra para o metabolismo do piruvato. O 1,2 -dicloroetano também sofre a ação pela aldeído desidrogenase e também pela *Haloacetate dehalogenase (EC: 3.8.1.3)*, também de *B. cenocepatia* (figura 24). O produto final da via é o glicolato, que entra para via do glioxilato.

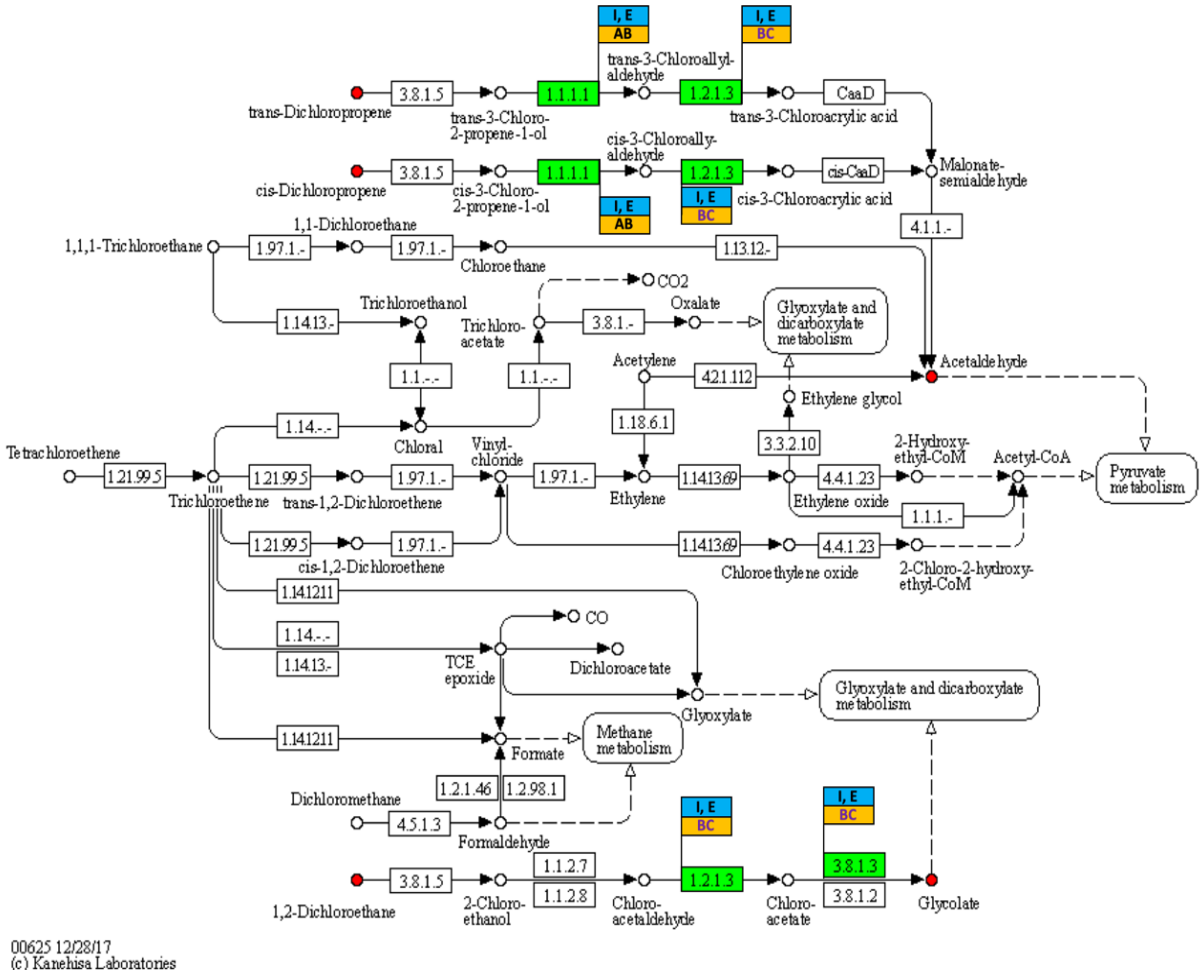


Figura 24: Via de degradação de Degradação de cloroalcano e cloroalceno (map00625). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia.* Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.

5.7. MODELO DE DEGRADAÇÃO DE XENOBIÓTICOS PARA O CONSÓRCIO A3

Na figura 25 é representada a associação entre as proteínas identificadas em cada espécie e a sua atuação na degradação nos grupos de xenobióticos e dos ácidos graxos. Os grupos foram categorizados dessa forma: (1) – aromáticos; (2) – ácidos graxos; (3) – alifáticos e (4) – outros compostos. Associado a cada composto xenobiótico ou ácidos graxos é indicado o número total de proteínas que foram encontradas participando na via de degradação para cada uma das três espécies do consórcio A3.

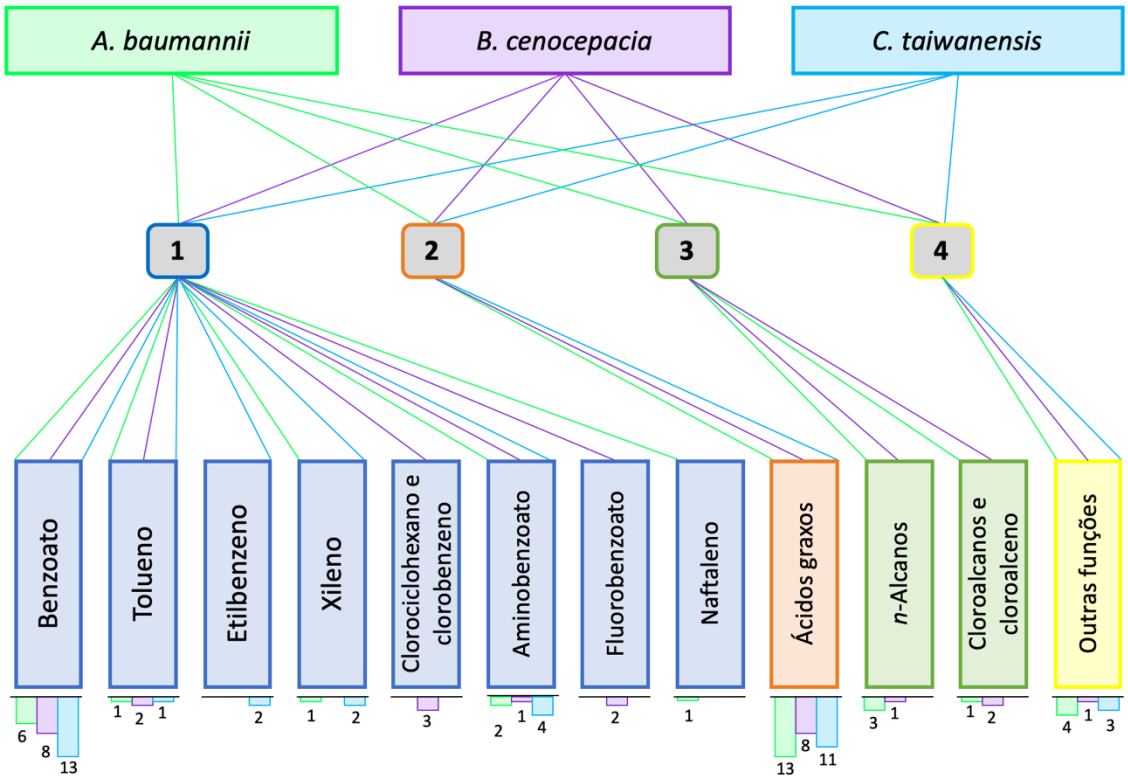


Figura 25. Relação das proteínas de *A. baumannii, B. cenocepacia* e *C. taiwanensis* associadas à degradação dos xenobióticos. (1) – Aromáticos; (2) – Ácidos graxos; (3) – Alifáticos e (4) – Outros compostos. Números associados aos compostos xenobióticos representam a quantidade de proteínas identificadas nas vias e degradação.

Entre os microrganismos, *A. baumannii* e *B. cenocepacia* foram associados à degradação de todos os quatro grupos de compostos. Apenas em *C. taiwanensis* não foram encontradas proteínas que tenham relação direta com a degradação de compostos alifáticos. No grupo dos aromáticos, entretanto, essa espécie teve destaque. Para o benzoato, as quantidades de proteínas por microrganismo indicam que *C. taiwanensis* é a que tem mais proteínas associadas a essa via de

degradação, com 13 proteínas no total, contra 6 em *A. baumannii* e 8 em *B. cenocepacia. C. taiwanensis* se destaca ainda nas vias do tolueno com 1 proteína, 2 para etilbenzeno, 2 para xileno e 4 para aminobenzoato, totalizando, 22 proteínas com atuação direta em compostos aromáticos. Já *A. baumannii* aparece, além do benzoato, nas vias do tolueno (1), xileno, aminobenzoato (2) e naftaleno (1), totalizando 10 proteínas atuando em aromáticos. *B. cenocepacia* também tem atuação em tolueno (1), clorociclohexano e clorobenzeno (3), aminobenzoato (1) e fluorobenzoato (2), totalizando 15 proteínas que atuam nas vias dos compostos aromáticos.

Na degradação dos ácidos graxos, *A. baumannii* e *C. taiwanensis* têm as maiores quantidades de proteínas, 13 e 11, respectivamente, contra 8 de *B. cenocepacia.* Entre os *n*-alcanos, *A. baumannii* tem pequena vantagem em relação a *B. cenocepacia,* e a vantagem se inverte nos alifáticos clorados. *C. taiwanensis* não apresentou enzimas nesses dois últimos grupos. E finalmente, no grupo quatro, que inclui degradação/atuação junto a outros compostos, e cuja atuação não se encontra plenamente estabelecida, temos *A. baumannii* com 4 proteínas, *C. taiwanensis* com 3 e *B. cenocepacia* com 1 proteína.

Observa-se uma tendência de preferência por determinada classe de compostos. A espécie *C. taiwanensis* aparece com uma quantidade maior de proteínas envolvidas na degradação dos compostos aromáticos, principalmente benzoato, enquanto que não foram encontradas proteínas com a associação à hidroxilação de *n*-alcanos ou ainda na etapa de conversão desses compostos em ácidos graxos. A via de ß-oxidação desse, além de estar completa, aparece com uma quantidade alta (comparada as demais) de proteínas identificadas. Os resultados sugerem que *A. baumannii* está mais associada com a degradação de alcanos/ácidos graxos. Pois, apresentou as maiores quantidades de proteínas envolvidas na degradação de ácidos graxos e foi a única bactéria em que foram encontradas proteínas responsáveis pela hidroxilação de *n*-alcanos, etapa essencial para degradação desses compostos. Em relação aos aromáticos, embora apresente certa quantidade de proteínas envolvidas na degradação desses compostos, não foram encontradas nenhuma delas atuando em funções-chave, como por exemplo a quebra de um anel aromático. Sua atuação se dá mais nas vias periféricas, onde acontece a conexão dessa via como a via do metabolismo energético central, com a formação de acetil-CoA, por exemplo. E finalmente, *B. cenocepacia* aparece ter boa atuação tanto em aromáticos quanto alifáticos. Foi encontrada uma importante dioxigenase nessa espécie para via de degradação de aromáticos e também uma enzima capaz de transformar um aldeído em ácido graxo na via de *n*-alcanos.

Baseados nas enzimas que conectam as diferentes rotas metabólicas propusemos uma rota geral pelo qual o consórcio A3 degrada os xenobióticos aromáticos discutidos até agora. Destacamos as enzimas que foram encontradas e que são responsáveis por reações enzimáticas capazes de fazer a transição de composto entre uma via metabólica e outra, e também algumas enzimas importantes que não foram encontradas. Dessa maneira conseguimos relacionar 05 vias metabólicas convergindo para o metabolismo energético central, na maioria dos casos pela via do benzoato (figura 26). Baseado, principalmente nos produtos de chegada na via do benzoato, propusemos 5 rotas distintas para degradação dos xenobióticos. As três primeiras rotas, intimamente relacionadas com a via do benzoato, a 4ª e a 5ª rotas, ou não se conectam com a via do benzoato ou não foram encontradas na amostra as enzimas que fazem a conexão.

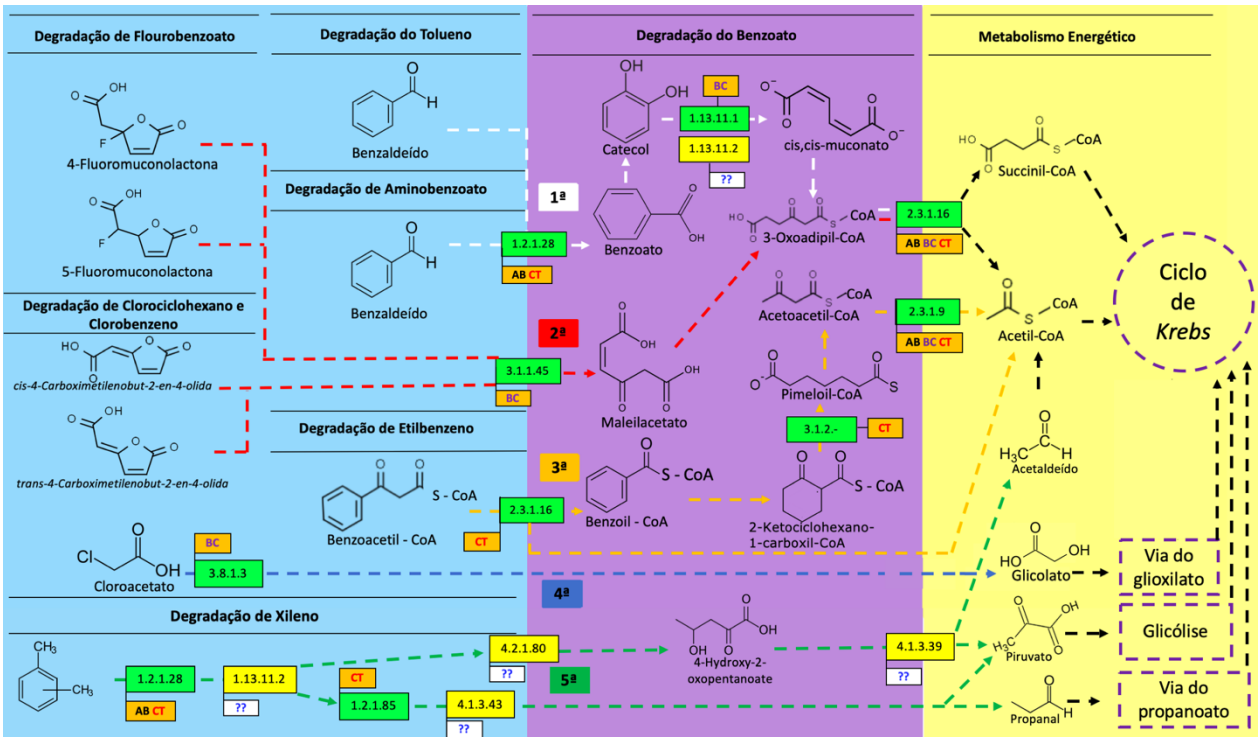


Figura 26. Mecanismo geral de degradação de compostos aromáticos pelo consórcio A3. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas e amarela enzimas importantes não encontradas. AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. As cores diferentes das setas tracejadas indicam as diferentes rotas de degradação de um determinado xenobiótico. A identificação das rotas (1ª a 5ª) estão indicadas com as mesmas cores.

Pela 1ª rota (setas brancas, figura 26), o produto de chegada é o próprio benzoato, proveniente das vias do tolueno e do aminobenzoato. A enzima que conecta essas duas vias com a via do benzoato é a aldeído desidrogenase (EC: 1.2.1.28), responsável por transformar benzaldeído

em benzoato. O benzoato vai ser convertido em catecol nas etapas seguintes. Não foram encontradas as enzimas responsáveis para estas etapas. Entretanto, o passo seguinte à formação de catecol, é a quebra do anel aromático por uma dioxigenase (EC: 1.13.11.1). A enzima responsável por essa reação promove a quebra por entre os grupos hidroxilas do catecol (quebra intra-diol). Propusemos a existência no consórcio A3 da enzima que também realiza a quebra extra-diol (EC: 1.13.11.2), devido ao fato da presença de enzimas que reagem ao produto dessa quebra. A última reação dessa rota proposta é a formação de 3-oxoadipil-CoA que vai ser convertido, pela ação de uma acetiltransferase (EC: 2.3.1.16), em succinil-CoA e acetil-CoA que se conectam diretamente com o metabolismo energético.

Pela segunda rota (setas em vermelho, figura 26), são conectados os produtos resultantes da quebra de fluorobenzoato e de clorociclohexano e clorobenzeno com a via do benzoato. A enzima responsável por isso é uma hidrolase (EC:1.1.1.35), que converte os subprodutos das vias em questão em maleilacetato. Já na via do benzoato, o maleilacetato sofre apenas duas reações antes de se tornar 3-oxoadipil-CoA e seguir os passos já descritos para formar succinil-CoA e acetil-CoA. Pela terceira rota (setas em laranja, figura 26) o etilbenzeno se conecta com a via do benzoato. A reação de uma aciltransferse transforma o benzoacetil – CoA em benzoil – CoA e acetil – CoA. Já na via do benzoato, o benzoil – CoA perde as duplas ligações do anel aromático e ganha um átomo de oxigênio ligado duplamente a um dos carbonos do anel de hexano. As enzimas responsáveis por essas reações não foram encontradas nas amostras analisadas, porém a reação que quebra do anel de hexano foi identificada. Essa reação é catalisada por uma hidrolase (EC: 3.1.2.-), que vai gerar pimeloil-CoA. A reação catalisada por essa enzima acontece sem a necessidade de oxigênio, o que caracteriza essa rota como anaeróbica. Nas sete reações seguintes para transformar o pimeloil-CoA em acetoacetil-CoA apenas duas enzimas não foram encontradas. A última reação que conecta a via do benzoato com o metabolismo energético é catalisada por uma acetil transferase que vai produzir duas moléculas de acetil – CoA.

A quarta rota conecta diretamente a via de degradação de clorociclohexano e clorobenzeno com o metabolismo energético. A ação de uma desalogenase (EC: 3.8.1.3) transforma o cloroacetato em glicolato, que participa diretamente da via do glioxilato. Finalmente, a quinta rota que propomos, tem como plano de fundo a via de degradação do xileno. Essa é a única rota em que não foram encontradas as enzimas que conectam xileno/benzoato/metabolismos energético. Foram encontradas dentro da via de degradação do xileno duas enzimas. A primeira delas uma aldeído

desidrogenase (EC: 1.2.1.28), que tem ação sobre as três isoformas de xileno. A reação de abertura do anel benzênico se dá pela ação de uma dioxigenase (EC: 1.13.11.2), que como já mencionado quando tratamos da 1ª rota (quebra do benzoato), não foi detectada, porém com alta probabilidade de ser produzida no consórcio A3. O produto da ação dessa enzima pode seguir caminhos diferentes dependendo de qual isoforma de xileno está sendo convertido. Se forem as isoformas *o*- e *m*-xileno, o produto irá seguir sofrendo reações sucessivas até se conectar com o metabolismo energético pela ação de uma aldolase (EC: 4.1.3.43), que irá converter, em última etapa, o 4-Hidroxi-2-oxohexanoato em piruvato e propanal. O primeiro entra no metabolismo central pela via glicolítica e o segundo pela via do propanoato. Essa aldolase também não foi encontrada na amostra. Se a quebra pela dioxigenase for em produto advindo de *p*-xileno, teríamos uma ligação com a via do benzoato. Uma hidratase (EC: 4.1.2.80) faria essa conexão ao produzir o 4-Hidroxi-2-oxopentanoato, que se conecta com a via do benzoato pela rota de quebra extra-diol do catecol. A conexão com o metabolismo central se daria pela ação de uma outra aldolase (EC: 4.1.3.43) também não encontrada, que iria produzir piruvato e acetaldeído, intermediários do metabolismo energético.

Definimos também uma rota pela qual o consórcio A3 consegue metabolizar compostos alifáticos. Basicamente essa rota segue o que já foi descrito anteriormente quando tratamos de degradação de alifáticos. Pelo esquema representativo da rota proposta (figura 27), os *n*-alcanos sofreriam a hidroxilação inicial por dois sistemas, A*lkB* e *AlmA*. O primeiro seria o responsável pela hidroxilação de alcanos de cadeias carbônicas menores, enquanto *AlmA* seria responsável pela hidroxilação de cadeias de hidrocarbonetos maiores.

Para o sistema *AlkB*, foi encontrada apenas uma das enzimas, uma rubredoxina redutase (EC: 1.18.1.1). São necessárias outras duas para hidroxilação dos alcanos por esse sistema. A rubredoxina redutase é um dos cofatores necessários para fornecer os elétrons para o correto funcionamento da enzima responsável pela reação principal (Ramu *et al.*, 2011). Após a hidroxilação, os *n*-alcanos seguiriam as etapas de conversão a aldeído e a ácido graxo, e entrariam em seguida na via de *ß*-oxidação com a formação de acetil – CoA em sequência. O processo também acontece com as alcanos de cadeia longa, diferindo apenas na hidroxilação inicial (Wentzel *et al*., 2007). Para esses tipos de alcanos, estamos propondo a hidroxilação pelo sistema *AlmA*.

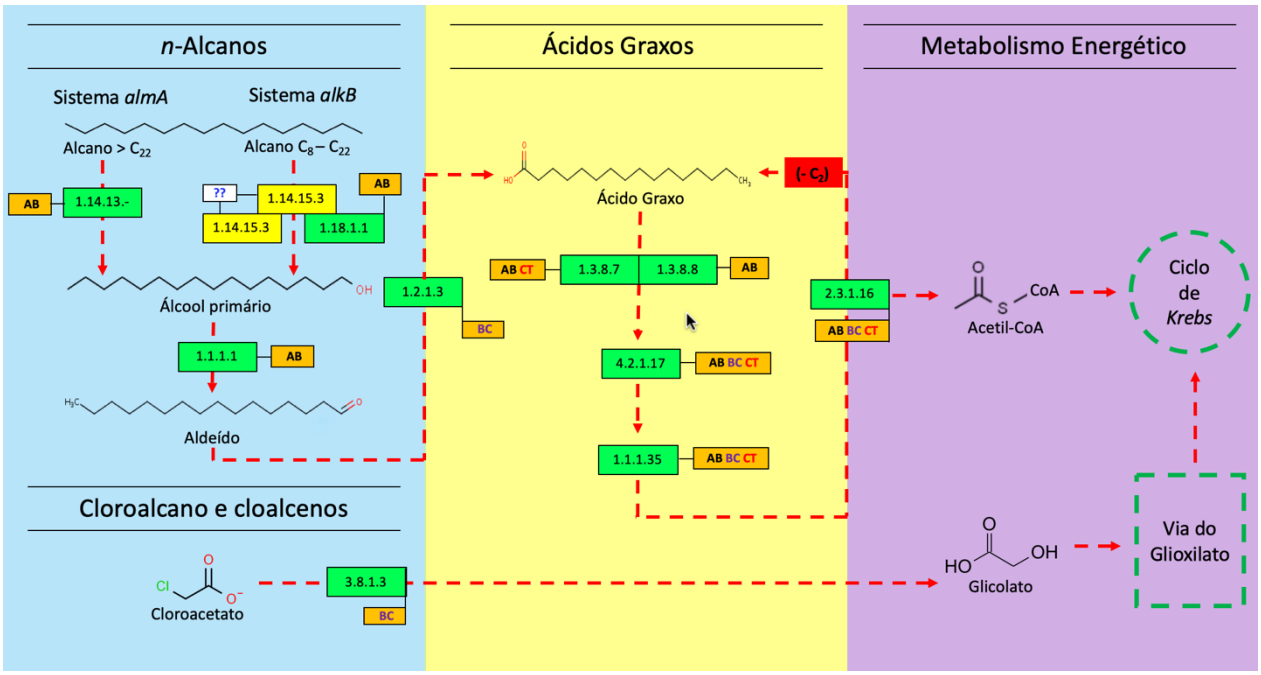


Figura 27. Mecanismo geral de degradação hidrocarbonetos alifáticos pelo consórcio A3. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas e amarela enzimas importantes não encontradas. AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*

O gene *almA* codifica uma monooxigenase putativa da família de ligação à flavina. Este gene foi analisado em mais detalhes e encontrado para estar envolvido na utilização de *n*-alcanos com um comprimento de cadeia longa. *almA* representa o primeiro gene clonado que codifica uma enzima especificamente envolvida na degradação de *n*-alcanos com cadeias de carbono maiores que C_{30}. Genes homólogos a *almA* foram identificados e clonados de *Acinetobacter sp.* RAG-1 Além disso, a análise de homologia de sequência sugeriu a presença de enzimas semelhantes também em outras espécies (Wentzel *et al*., 2007).

O processo exato de como as flavoproteínas monooxigenases codificadas especificamente pelo gene *almA* oxidam os *n*-alcanos de cadeia longa permanece ainda obscuro. Entretanto, sabe-se que essa família de proteínas está envolvida em uma variedade de processos biológicos que vão desde a degradação da lignina até a biossíntese de produtos naturais e desintoxicação de compostos xenobióticos. Em termos gerais, essas são enzimas redox que usam um cofator de mononucleotídeo de flavina (FMN) ou dinucleotídeo de flavina adenina (FAD) para ativar o dioxigênio (O_2). Elas catalisam a incorporação de um átomo de O_2 em um substrato e a redução do outro átomo de oxigênio em água (Paul *et al*., 2021).

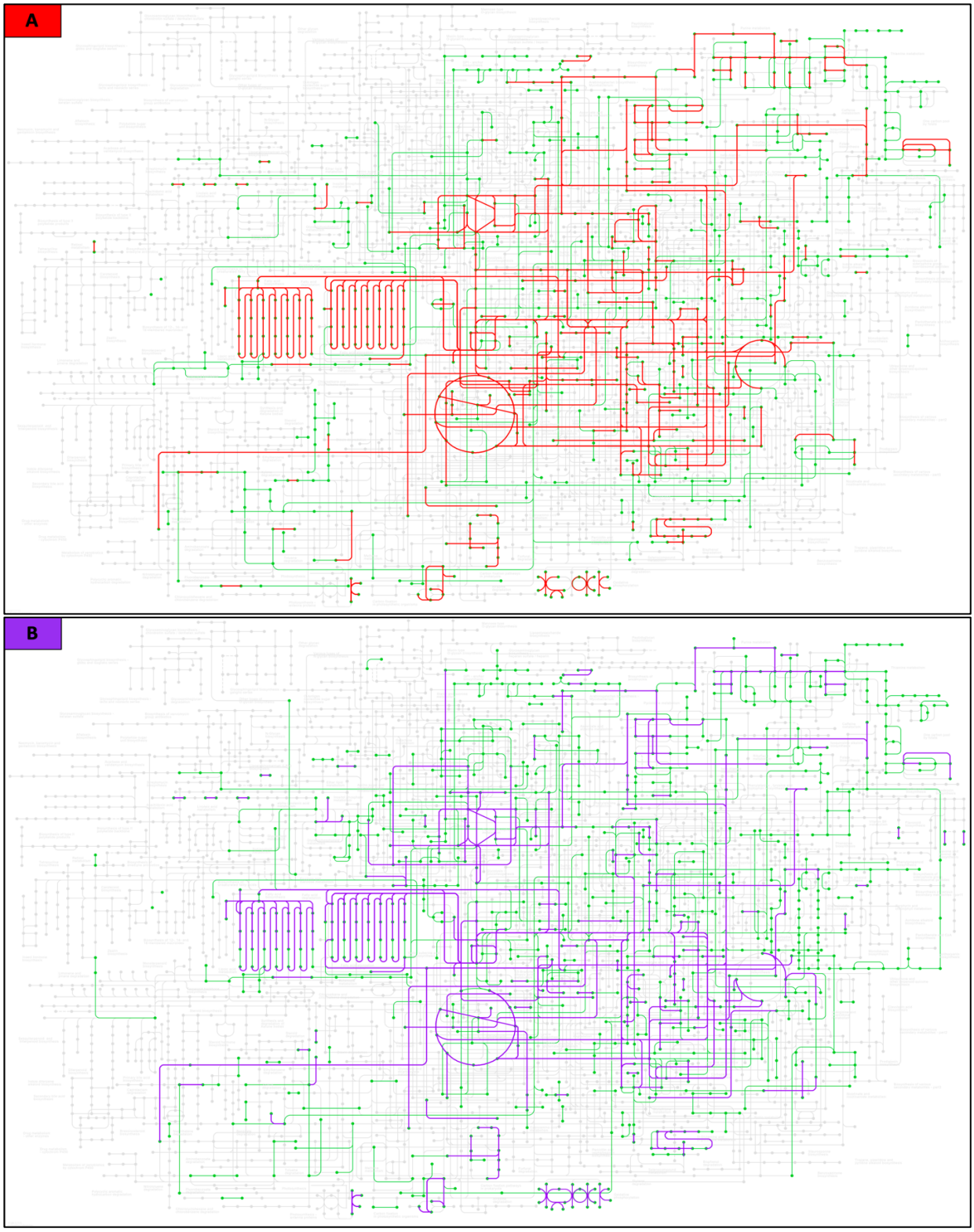
A ocorrência de microrganismos capazes de degradar uma ampla gama de compostos xenobiótico, como descrito para o consórcio A3, não é incomum. A análise metabólica das

sequências do genoma de *Ancylobacter aquaticus* UV5 revelou as vias catabólicas para a degradação do benzoato, 2,4-diclorobenzozato, fluorobenzoato, flúor, naftaleno e antraceno, caprolactama, tetracloroeteno muito tóxico, atrazina, 1,4-diclorobenzeno, bifenil, tolueno e xileno, carbazol, etilbenzeno, 1,1,1-tricloro-2,2-bis (4-clorofenil) etano (DDT), estireno, gama-hexaclorociclohaxano e bisfenol. A maioria dos produtos finais das vias acima são direcionados para o ciclo de Krebs (Kumar *et al*., 2020), corroborando os resultados descritos para o consórcio A3.

5.8. MAPAS METABÓLICOS DAS ESPÉCIES DO CONSÓRCIO A3

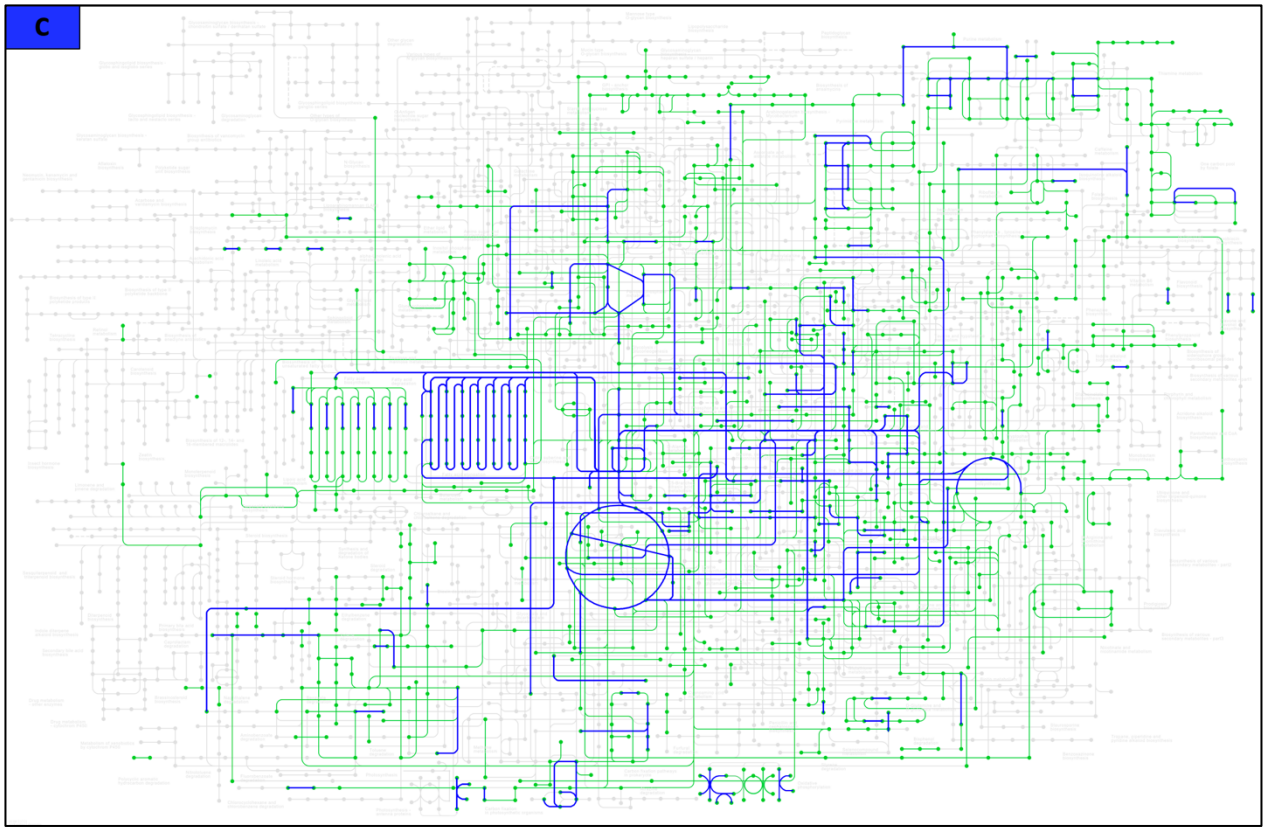
Do mapa de *A. baumannii* observa-se uma boa cobertura nas identificações de proteínas para essa espécie. Foram identificadas todas as proteínas do metabolismo energético central, (parte mais central no mapa A), e biossíntese e degradação de ácidos graxos. É possível perceber ainda as conexões que as vias de degradação de xenobiótico (parte inferior do lado esquerdo) fazem com metabolismo energético central, principalmente ciclo de *Krebs* e via glicolítica. As vias relacionadas ao metabolismo dos aminoácidos (lado direito do mapa A) apresentaram também boa cobertura de proteínas, indicando que esse microrganismo está conseguindo desenvolver suas funções básicas. O metabolismo de aminoácidos indica que a síntese de proteínas está acontecendo mesmo na presença unicamente do diesel como fonte de carbono e energia.

A análise do mapa B (*B. cenocepacia***)** é possível perceber algumas lacunas nas vias glicolítica, ciclo de *Krebs* e biossíntese e degradação de ácidos graxos. Essa última, como já comentado anteriormente, encontra-se incompleta por não ter sido identificada uma enzima que inicia da via de ß-oxidação dos ácidos graxos. Já em relação do ciclo de *Krebs*, apenas uma enzima responsável por fazer a ligação da via glicolítica com o ciclo não foi encontrada, responsável pela conversão do piruvato em acetil-CoA. É possível perceber ainda, que para a espécie *B. cenonocepacia*, não existe até o momento, proteína anotada no *KEGG* capaz de realizar a penúltima reação do ciclo de *Krebs*, responsável por converter o malato em oxaloacetato. Pela via é possível identificar que o malato é convertido por uma malato sintase em glioxilato. Essa é a via alternativa ao ciclo de Krebs.



Mapas A e B – Mapas de vias metabólicas de *A. baumannii* e *B. cenocepacia*. A – 510 proteínas de *A. baumannii*. B – 496 proteínas de *B. cenocepacia*. Códigos dos mapas no KEGG: vias metabólicas (abc01100) e (bmj01100). Em vermelho (A) e roxo (B) vias onde atuam as proteínas identificadas, em verde todas as proteínas anotadas no *KEGG* para a espécie.

Algumas bactérias, quando cultivadas na presença de xenobiótico utilizam vias alternativas ao ciclo de *Krebs* para obtenção de energia. Kurbatov *et al.* (2006) perceberam que algumas enzimas do ciclo do TCA se mantinham em nível de expressão normal, enquanto enzimas de outras vias metabólicas tinham a sua taxa de expressão alterada, quando *P. putida* era cultivada com fenol como fonte de carbono. Concluíram que no crescimento com fenol, o acetil-CoA estava sendo metabolizado via glioxilato ao invés do ciclo TCA utilizando os produtos finais da degradação do fenol para fornecer metabólitos (oxaloacetato, malato, piruvato e fosfoenolpiruvato) para as vias anabólicas. No caso da *B. cenonocepacia* essa também é a hipótese mais plausível. As conexões do metabolismo energético e degradação de xenobióticos também é perceptível após análise do mapa B, assim como a boa cobertura de proteínas relacionadas ao metabolismo de aminoácidos.



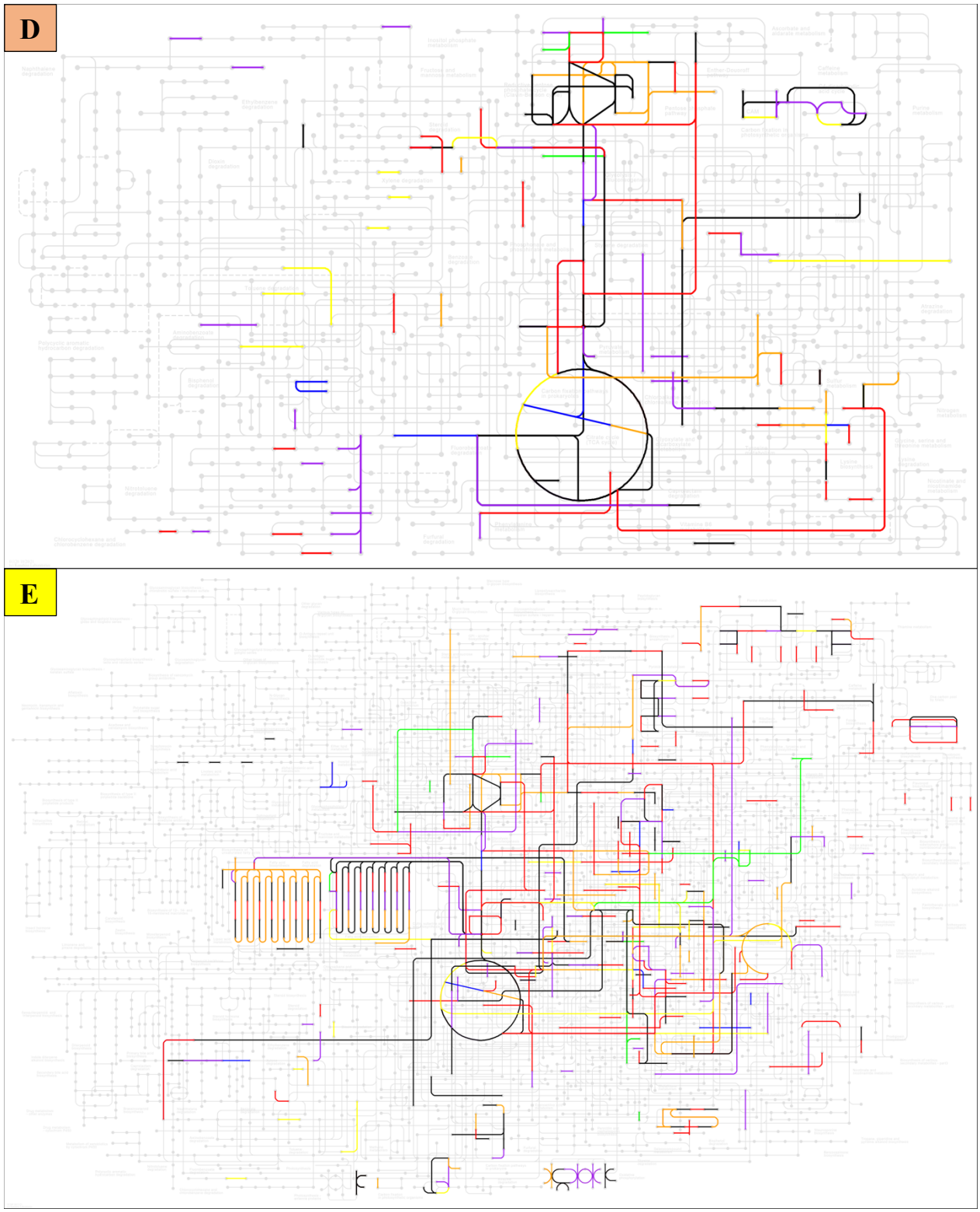
Mapas C – Mapas de vias metabólicas de *C. taiwanensis* C – 290 proteínas de *C. taiwanensis*. Códigos dos mapas no KEGG: vias metabólicas (cti01100). Em azul indicam as vias onde atuam as proteínas identificadas, em verde todas as proteínas anotadas no *KEGG* para a espécie.

O mapa metabólico para *C. taiwanensis* (mapa C) foi o que apresentou a menor cobertura das vias metabólicas se comparada aos mapas das outras duas espécies, afinal foi a espécie que teve a menor quantidade de proteínas identificadas. Aproximadamente 206 proteínas a menos que

as outras espécies. Apesar disso, é possível perceber muitas proteínas das vias glicolítica e ciclo de *Krebs*, esse último completo. É perceptível também que a via do glioxilato também está ativa nesse microrganismo. A biossíntese de ácidos graxos teve menor cobertura entre as três espécies, porém a de degradação via ß-oxidação está completa. Sobre as conexões das vias de degradação de xenobióticos com o metabolismo energético, temos algumas considerações. As conexões estão presentes, e ainda é possível perceber que essa bactéria tem mais proteínas identificadas relacionadas com as vias de degradação de xenobióticos que as duas outras bactérias, mesmo com a diferença expressiva no total de proteínas identificadas. Além desse fato, é possível perceber que existem mais proteínas anotadas no KEGG (vias em verde) para degradar xenobióticos nessa espécie que nas outras duas.

O mapa D é um dos mapa de sinergismos entre as espécies do consórcio A3 que representa de forma ampliada a seção de proteínas identificadas que foram relacionadas com xenobióticos, via glicolítica e clico de Krebs, além de outras vias que o *KEGG* inclui na categoria "metabolismo microbiano em diversos ambientes". Todas as reações nas vias de degradação de xenobióticos somam aproximadamente 50 reações para o total de proteínas que foram identificadas no consórcio A3. A via do metabolismo energético central aparece completa e com as conexões bem explícitas com a degradação de xenobióticos. Essas conexões se formam a partir da geração de acetil-CoA ou outros produtos intermediários do ciclo de Krebs, especialmente succinil-CoA e glioxilato. Das proteínas que aparecem exclusivas por espécie é possível perceber uma maior quantidade delas para *A. baumannii* seguido de *B. cenocepacia*. Aquelas comuns a todas as espécies aparecem principalmente relacionas as via glicolítica e ao ciclo de Krebs.

A construção do mapa de sinergismo das espécies para o consórcio A3 (mapa E) resultou na definição de várias vias metabólicas completas, como por exemplo via glicólica, ciclo de Krebs e metabolismos de ácidos graxos. Em todas elas é possível perceber o sinergismo entre as espécies na formação dessas vias metabólicas. Como é possível analisar pelo mapa, em alguns casos as vias aparecem incompletas para a espécie, porém quando analisadas na forma de consórcio a via si torna completa. Essa complementação de vias já era esperada, em virtude do efeito colaborativo entre as cepas constituindo o consórcio. Os consórcios bacterianos com um espectro maior de enzimas exibem a possibilidade de utilizar uma quantidade também maior de substratos, além do que as espécies exibem habilidades metabólicas que se complementam e conseguem assim, melhor adaptação aos ambientes, como também foi demonstrando por Jia *et al*., (2016).



Mapa D e E – Mapas de sinergismos entres as espécies do consócio A3 nas diferentes vias metabólicas. 890 proteínas do consórcio A3, com seleção automática no KEGG para "metabolismo microbiano em diversos ambientes" (mapa D) e sem restrição por via metabólica (mapa E). Código dos mapas no KEGG: metabolismo microbiano em diversos ambientes

(map01120); vias metabólicas (map01100). Vias na cor Vermelha – Proteínas exclusiva de *A. baumannii*; Roxo – exclusiva de *B. cenocepacia*; Azul – exclusiva de *C. taiwanensis*; Laranja – Comum a *A. baumannii* e *B. cenocepacia*; Verde – Comum a *B. cenocepacia* e *C. taiwanensis*; Amarelo – Comum a *A. baumannii* e *C. taiwanensis*; Preto – Proteínas comuns a todas as espécies.

Vale ressaltar que esse último mapa engloba todas as vias metabólicas descritas no KEGG, algumas delas, inclusive, não são observadas em muitos microrganismos. A coberturas de vias metabólicas ativas pelas enzimas que foram identificadas indicam que as principais funções celulares desse microrganismo estão plenamente funcionando nas condições de cultivo em xenobióticos.

Além disso a análise individual realizada de cada espécie do consórcio é importante para a compreensão do papel que cada uma desempenha no processo de biorremediação do diesel. Muitos consórcios bacterianos foram construídos para melhorar a remoção de óleo bruto (Gurav *et al*., 2017; Yuan *et al*., 2018), isso depois de exaustiva pesquisa sobre as espécies componentes do consórcio, a fim de que as principais qualidades de uma determinada espécie fosse devidamente empregada no consórcio. Na biorremediação, a divisão metabólica do trabalho é uma abordagem poderosa para processar substratos complexos (Roell *et al*., 2019). Os hidrocarbonetos podem ser degradados naturalmente por microrganismos que produzem biossurfactantes para facilitar a absorção de hidrocarbonetos (Beal e Betts, 2000). O conceito foi imitado na formulação de consórcios bacterianos para aumentar a degradação do petróleo bruto (Xia *et al*., 2019). Outros tipos de divisão metabólica têm sido usados em substratos complexos que requerem a participação de várias enzimas, que dividem um ou mais processos para fazer diferentes cepas executarem tarefas distintas, mas complementares (Li *et al*., 2020b).

5.9. ABUNDÂNCIA DAS PROTEÍNAS ASSOCIADAS A BIORREMEDIAÇÃO

Um *heatmap* (figura 28) com a abundância das proteínas por espécies e amostra foi construído, sendo as proteínas categorizadas de acordo com o tipo de xenobiótico que elas interagem. Agrupadas em primeiro lugar estão relacionadas apenas as proteínas que foram associadas exclusivamente às vias metabólicas de compostos aromáticos. Em seguida aparecem as proteínas associadas exclusivamente às vias de compostos alifáticos e ácidos graxos, seguido das proteínas que foram observadas participando nas duas categorias. E, por fim foram agrupadas em "outras funções" as proteínas que parecem ter um envolvimento com a degradação de xenobiótico,

porém com informações pouco claras a respeito de sua real função da remediação desses compostos.

Para o grupo dos compostos aromáticos foram incluídas 10 proteínas que apresentaram apenas atividade relacionada a essa classe de compostos. Dessas proteínas é possível identificar entre a amostra extracelular uma maior abundância delas em *C. taiwanensis* (6 proteínas), seguido por *B. cenocepacia* (3 proteínas) e apenas uma para *A. baumannii*. O destaque para esse primeiro grupo analisado é da proteína *3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase* **(**30) de *B. cenocepacia* que apresenta contagem maior no número de espectros e está ausente nas duas outras espécies. Essa enzima é responsável por uma das últimas reações da via anaeróbia do benzoato.

Ainda para esse primeiro grupo de proteínas, de maneira geral, a abundância na amostra extracelular é maior que na intracelular, tanto em quantidade no número de proteínas quanto na quantidade de *spectral counts* por proteína. Um exemplo disso é que em alguns casos se pode perceber a ausência da proteína na amostra intracelular. Por exemplo, a proteína *2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase* (10) não aparece para a *C. taiwanensis* intracelular. Essa enzima é responsável por reagir na via do xileno. A enzima *Catechol 1,2-dioxygenase* (242) de *B. cenocepacia*, responsável pela quebra do catecol, aparece com uma baixa abundância quando comparada à outras enzimas desse grupo, assim como a *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase* (468) (ambas as amostras), de *C. taiwanensis* e *Benzaldehyde dehydrogenase II* (720) (ambas as amostras) de *A. baumannii,* que são enzimas responsáveis por reações importantes na via do xileno. A enzima responsável pela abertura anaeróbica do benzoato (proteína 1), de *C. taiwanensis,* aparece com uma abundância maior na amostra extracelular do que na intracelular.

Para as proteínas que degradam exclusivamente ácidos graxos/alcanos (09 no total), o destaque é para *A. baumannii*, em ambas as amostras (06 proteínas em cada). As duas proteínas de *B. cenocepacia* e as duas de *C. taiwanensis* que aparecem com uma quantidade maior de espectros, demostram praticamente o mesmo desempenho nas duas amostras. Entre as proteínas desse grupo o destaque é para *Acyl-CoA dehydrogenase* (146) de *A. baumannii* e *C. taiwanensis*, estando ausente em *B. cenocepacia*. Essa proteína é uma das responsáveis pela reação inicial da via de *ß*-oxidação dos ácidos graxos. A proteína *Acyl-CoA synthetase (Long-chain-fatty-acid--CoA ligase)* (148) também se destaca, porém foi encontrada apenas para *A. baumannii.* Essa proteína está envolvida na ligação de CoA com ácidos graxos de cadeia longa. A rubredoxina (757) importante enzima de hidroxilação inicial de *n*-alcanos, vista apenas em *A. baumannii,* aparece com baixa

abundância em ambas as amostras. E também a *NAD-dependent aldehyde dehydrogenase* (470), de *B. cenocepacia,* que faz a última transformação na via dos *n*-alcanos, transformando-os em ácidos graxos.

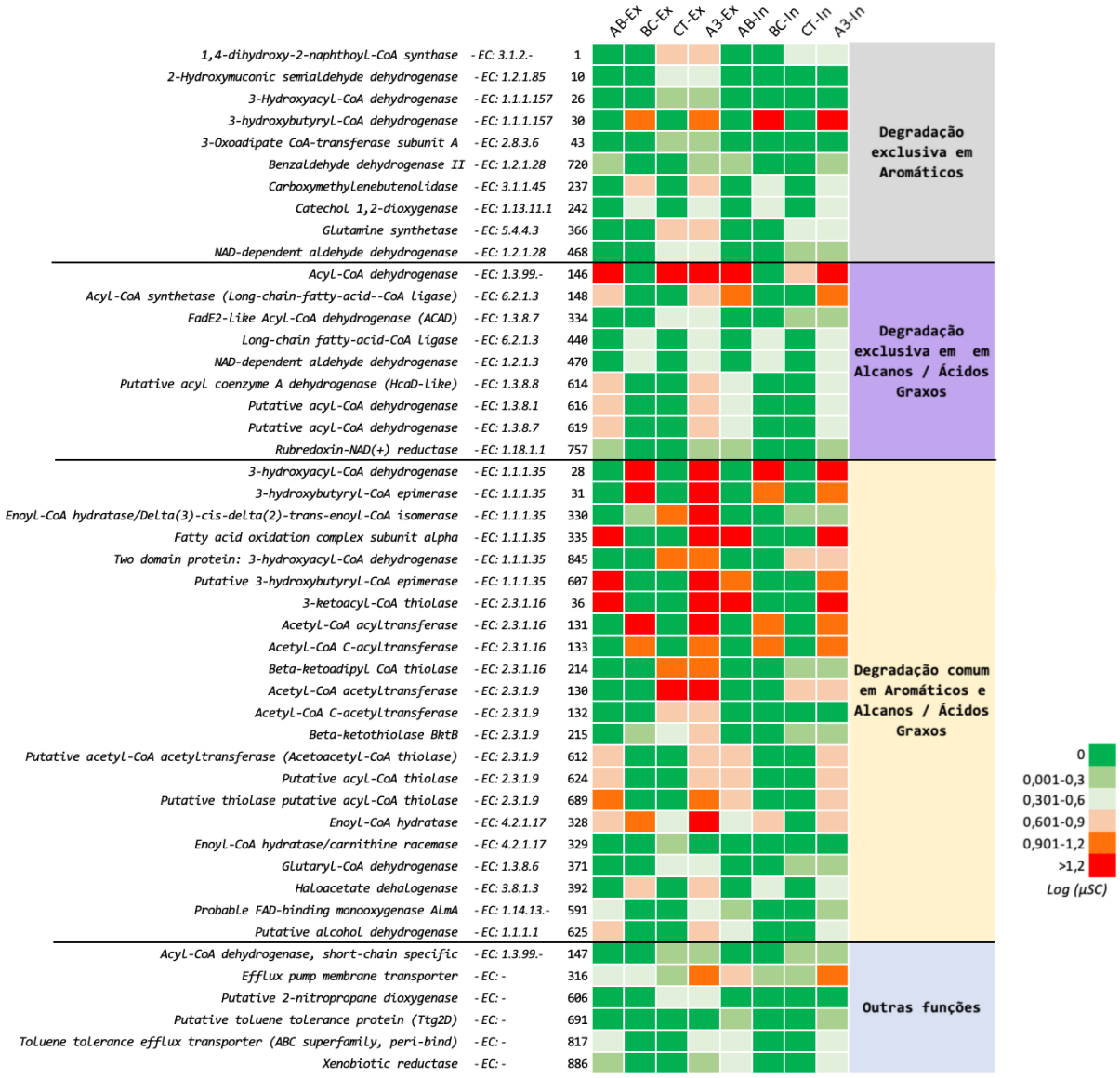


Figura 28. *Heatmap* de abundância das proteínas associadas com a degradação de xenobióticos. Baseado nos *spectral counts* totais observados nos dados de espectrometria de massas. AB-Ex – *A. baumannii* amostra extracelular; BC-Ex – *B. cenocepacia* amostra extracelular; CT-Ex – *C. taiwanensis* amostra extracelular; A3-Ex – consórcio A3 amostra extracelular; AB-In – *A. baumannii* da amostra intracelular; BC-In –*B. cenocepacia* amostra intracelular; CT-In – *C. taiwanensis* amostra intracelular; A3-In – consórcio A3 amostra intracelular. Sequência numérica após o *EC number* representam a sequência dessas proteínas na tabela 12 e no apêndice 02.

O grupo que reúne proteínas que atuam tanto nas vias de aromáticos quanto de alifáticos, além de ser o maior (22 proteínas), é também o que tem maior abundância de proteínas entre as condições analisadas. Para a amostra extracelular a quantidade de proteínas que se destacam entre as espécies é praticamente a mesma, 07 em *A. baumannii*, 07 em *B. cenocepacia* e 05 em *C. taiwanensis*. Esses dados praticamente se repetem para as mesmas proteínas nas amostras extracelular, exceto para *C. taiwanensis* onde aparecem apenas duas proteínas com abundância maior. Também aqui se percebe uma maior abundância de proteínas na amostra extracelular que na intracelular, isso é mais evidente quando comparado apenas A3-In e A3-Ex.

Algumas proteínas aparecem com nomes diferentes e abundância relativamente diferente dependendo da espécie, entretanto, algumas delas apresentam o mesmo número *EC*. Nesse caso analisamos a abundância delas baseado no número EC. Por exemplo, para as de EC: 1.1.1.35 (6 proteínas) tem sempre duas proteínas por espécie com abundância alta, se comparada às demais proteínas do grupo. Isso é visto para ambas as amostras, exceto em *C. taiwanensis* na amostra intracelular. As de EC: 2.3.1.16, tem pelo menos uma proteína por bactéria que destaca nas amostras extracelular e intracelular, com exceção novamente para *CT -In.* Já as de EC: 2.3.1.9 são mais abundantes em *C. taiwanensis* e *A. baumannii* do que em *B. cenocepacia* em ambas as condições. Essas duas enzimas participam da última reação da via de *ß*-oxidação, na liberação de acetil-CoA e um ácido graxo com dois carbonos a menos. Entretanto a EC: 2.3.1.16 aparece em todas as reações finais da via, enquanto que a EC: 2.3.1.9, aparece apenas nas reações onde os ácidos graxos possuem cadeias carbônicas menores (C_6 e C_4). Considerando as duas enzimas e suas respectivas abundâncias em cada bactéria, uma leve tendência de maior abundância em *A. baumannii* do que nas outras espécies, é vista. As duas enzimas que participam ativamente na conversão de *n*-alcanos à ácidos graxos, e foram encontradas apenas em *A. baumannii*, sendo que a *Putative alcohol dehydrogenase* (625) tem maior abundância que a *Probable FAD-binding monooxygenase AlmA* (591), como um desempenho um pouco melhor da 625 em *AB-Ex.*

No grupo de proteínas associadas com outras funções relacionadas à xenobióticos, foram incluídas 6 proteínas que tem atuação em processos pouco claros ou que degradam outros compostos. Como é o caso da proteína *Acyl-CoA dehydrogenase, short-chain specific* (147), incluída nesse grupo por atuar na degradação de caprolactama, que é um composto orgânico (ácido 6-aminohexanóico) monômero na produção de *nylon* (Lai *et al.,* 2019). Essa proteína foi encontrada em *C. taiwanensis* e apresenta baixa abundância nas amostras intra e extracelular. As

proteínas *Toluene tolerance efflux transporter (ABC superfamily, peri-bind)* (817), *Putative toluene tolerance protein (Ttg2D)* (691) e *Efflux pump membrane transporter* (316), são proteínas de transporte do tipo ABC, e parecem estar envolvidas de certa forma como a tolerância de tolueno em *A. baumannii* onde foram encontradas. No geral, as três apresentam baixa abundância nas amostras, com exceção de 316 em *AB-In.* As proteínas *Putative 2-nitropropane dioxygenase* (606) de *C. taiwanensis* e *Xenobiotic reductase* (886) de *A. baumannii* são as que têm atuação ainda menos clara em relação aos seus papeis na degradação de xenobióticos. A primeira é uma enzima da classe das dioxigenases, e a segunda um redutase que parece ter atuação direta sobre compostos xenobióticos.

Setorizando a relação das enzimas exclusivas de aromático e exclusivas de alcanos/ácidos graxos de acordo com a abundância delas nas espécies, somos levados a concluir que as espécie *C. taiwanensis* aparece mais intimamente relacionado com as enzimas exclusivas de aromáticos, enquanto que *A. baumannii* parece estar mais associada com alcanos/ácidos graxos, e *B. cenocepacia* não se destaca em nenhum desse dois grupos de enzima, embora apresente enzima nos dois grupos.

Nkem *et al.,* (2016) testaram uma cepa *A. baumannii* para a degradação de hidrocarbonetos usando óleo diesel como única fonte de carbono. Os resultados analisados usando GC-MS, mostraram que alcanos de óleo diesel foram degradados em média 58,1%. A cepa degradou de forma mais eficiente (68,3% -95,9%) os alcanos de óleo diesel de C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{15}, C_{17}, C_{18}, C_{19}, C_{22} e C_{24}, enquanto outros (C_{10}, C_{14}, C_{16}, C_{20}, C_{23}, C_{25}, C_{26}, C_{27}, C_{28} e C_{29}) foram menos degradados (0,2% – 46,2%). O estudo concluiu que a cepa é degradadora de hidrocarbonetos com potencial para biorremediação de ambiente marinho poluído por óleo. Trabalhos anteriores também mostraram que essa espécie tem relação com degradação de hidrocarbonetos, principalmente os alcanos. Uma cepa de *A. baumannii* isolada de petróleo bruto exibiu 62,8% de biodegradação de hidrocarbonetos totais após 7 dias (Phan *et al*., 2013). Mishra *et al*. (2004) relataram que os alcanos foram degradados preferencialmente por *A. baumannii* em comparação com outros hidrocarbonetos durante os experimentos de biodegradação de petróleo bruto. Ijah (1998) relatou que os alcanos do petróleo bruto foram degradados principalmente em relação a outros hidrocarbonetos em 52%, usando bactérias isoladas de solos tropicais em 16 dias.

Já os trabalhos envolvendo a degradação de hidrocarbonetos tem associado a espécie *C. taiwanensis* com a degradação de compostos aromáticos e poliaromáticos. A cepa LA mostrou

degradação de aproximadamente 60% e 80% para pireno e fenantreno, respectivamente, após 15 dias de cultivo (Oyehan e Al-Thukair, 2017) e a cepa R186 tem sido associada a degradação de fenol (Chen *et al*., 2008).

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A partir dos resultados descritos neste trabalho conclui-se que foi obtido um consórcio bacteriano promissor para aplicação em processos de biorremediação. Sua eficiência, avaliada em 74 % de degradação de diesel em apenas 7 dias, é forte evidência disso, além de todos os dados relacionados a biorremediação que foram avaliados.

O consórcio A3 demostrou ter envolvimento na degradação de 11 compostos xenobióticos presentes no diesel. A análise de todas as proteína identificadas e associadas principalmente com essas vias metabólicas nos levaram a concluir as espécies presentes no consórcio podem estar atuando de modo sinérgico para favorecer a degradação desses compostos.

Quando se avalia a contribuição individual de cada espécie para o consórcio A3, é possível identificar que *C. taiwanensis* aparece com uma quantidade maior de proteínas envolvidas na degradação dos compostos aromáticos, principalmente o benzoato. Embora a via de ß-oxidação, estivesse completa e em quantidade alta de proteínas identificadas, não foram encontradas proteínas associação à hidroxilação de *n*-alcanos ou ainda na etapa de conversão desses compostos em ácidos graxos nessa espécie. Já *A. baumannii* apresentou as maiores quantidades de proteínas envolvidas na degradação de ácidos graxos e foi a única bactéria em que foram encontradas proteínas responsáveis pela hidroxilação de *n*-alcanos. Quanto aos aromáticos, embora apresente 11 proteínas envolvidas na degradação desses compostos, não foram encontradas nenhuma delas atuando em funções-chave, tais como a quebra de um anel aromático. Sua atuação se dá mais nas vias periféricas, onde acontece a conexão dessa via como o metabolismo energético central. E finalmente, *B. cenocepacia* parece ter boa atuação tanto em aromáticos quanto alifáticos. Foi encontrada uma importante dioxigenase nessa espécie para via de degradação de aromáticos e uma enzima capaz de transformar um aldeído em ácido graxo na via de *n*-alcanos.

Dando continuidade para a validação do consórcio A3 como ferramenta em processos de biorremediação, este terá a sua eficiência avaliada após ser imobilizado em substrato lignocelulósico. Outro aspecto a ser investigado será o genoma das espécies que constituem o consórcio A3. Estas atividades futuras estão em fase de planejamento e integram os objetivos de um projeto aprovado recentemente no âmbito do Edital 007/2021-BIODIVERSA/FAPEAM (em fase de implementação). A obtenção destes resultados contribuirão para o desenvolvimento de um produto biotecnológico que pode ser amplamente empregado na recuperação de áreas impactadas como hidrocarbonetos de petróleo.

7. REFERÊNCIAS

Adetunji, A. I., e Olaniran, A. O. (2020). *Production and potential biotechnological applications of microbial surfactants: An overview. Saudi Journal of Biological Sciences.* doi:10.1016/j.sjbs.2020.10.058

Adeva-Andany, M. M., Carneiro-Freire, N., Seco-Filgueira, M., Fernández-Fernández, C., & Mouriño-Bayolo, D. (2018). *Mitochondrial β-oxidation of saturated fatty acids in humans. Mitochondrion*. doi:10.1016/j.mito.2018.02.009

Ahmed, F., Fakhruddin, A. N. M. *A Review on Environmental Contamination of Petroleum Hydrocarbons and its Biodegradation. Int J Environ Sci Nat Res. 2018; 11(3): 555811.* doi: 10.19080/IJESNR.2018.11.555811.

Ajona, M., Vasanthi, P. (2021). *Bioremediation of petroleum contaminated soils – A review, Materials Today: Proceedings*. doi:10.1016/j.matpr.2021.01.949

Al-Majed, A. A., Adebayo, A. R., Hossain, M. E. (2012). *A sustainable approach to controlling oil spills. Journal of Environmental Management, 113, 213–227.* doi:10.1016/j.jenvman.2012.07.034

AL-Saleh, E., Drobiova, H., & Obuekwe, C. (2009). *Predominant culturable crude oil-degrading bacteria in the coast of Kuwait. International Biodeterioration & Biodegradation, 63(4), 400–406.* doi:10.1016/j.ibiod.2008.11.004

Almeida, D. G. de, Silva, M. da, G. C. da, Barbosa, R. do N., Silva, D. de S. P., Silva, R. O. da, Lima, G. M. de S, Sousa, M. de F. V de Q. (2017). *Biodegradation of marine fuel MF-380 by microbial consortium isolated from seawater near the petrochemical Suape Port, Brazil. International Biodeterioration & Biodegradation, 116, 73–82.* doi:10.1016/j.ibiod.2016.09.028

Ampelli, C., Centi, G., Passalacqua, R., & Perathoner, S. (2016). *Electrolyte-less design of PEC cells for solar fuels: Prospects and open issues in the development of cells and related catalytic electrodes. Catalysis Today, 259, 246–258.* doi:10.1016/j.cattod.2015.07.020

An, X., Chen, Y., Chen, G., Feng, L., & Zhang, Q. (2020). *Integrated metagenomic and metaproteomic analyses reveal potential degradation mechanism of azo dye-Direct Black G by thermophilic microflora. Ecotoxicology and Environmental Safety, 196, 110557.* doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110557

Arellano, P., Tansey, K., Balzter, H., & Tellkamp, M. (2017). *Plant Family-Specific Impacts of Petroleum Pollution on Biodiversity and Leaf Chlorophyll Content in the Amazon Rainforest of Ecuador. PLOS ONE, 12(1), e0169867.* doi:10.1371/journal.pone.01698

Auffret, M. D., Yergeau, E., Labbé, D., Fayolle-Guichard, F., & Greer, C. W. (2015). *Importance of Rhodococcus strains in a bacterial consortium degrading a mixture of hydrocarbons, gasoline, and diesel oil additives revealed by metatranscriptomic analysis. Applied Microbiology and Biotechnology, 99(5), 2419–2430.* doi:10.1007/s00253-014-6159-8

Ayed, H. B., Jemil, N., Maalej, H., Bayoudh, A., Hmidet, N., e Nasri, M. (2015). *Enhancement of solubilization and biodegradation of diesel oil by biosurfactant from Bacillus amyloliquefaciens An6. International Biodeterioration & Biodegradation, 99, 8–14.* doi:10.1016/j.ibiod.2014.12.00

Azevedo-Santos, V. M., Garcia-Ayala, J. R., Fearnside, P. M., Esteves, F. A., Pelicice, F. M., Laurance, W. F., & Benine, R. C. (2016). *Amazon aquatic biodiversity imperiled by oil spills. Biodiversity and Conservation, 25(13), 2831–2834.* doi:10.1007/s10531-016-1192-9

Balogun, S. A., Shofola, T. C., Okedeji, A. O. e Ayangbenro, A. S. (2015). *Screening of hydrocarbonoclastic bacteria using redox indicator 2, 6-dichlorophenol indophenol, Global NEST Journal*, 17(3), 565-573.

Bao, M., Wang, L., Sun, P., Cao, L., Zou, J., & Li, Y. (2012). *Biodegradation of crude oil using an efficient microbial consortium in a simulated marine environment. Marine Pollution Bulletin, 64(6), 1177–1185.* doi:10.1016/j.marpolbul.2012.03.020

Bazargan, A., Tan, J., McKay, G., (2015). *Standardization of oil sorbent performance testing. Journal of Testing and Evaluation 43, 1–8.* doi:10.1520/JTE20140227.

BBC News (2013) Brazil 'on alert' over an oil spill from Ecuador. BBC News. http://www.bbc.com/news/ world-latin-america-22836975. Acesso em: 10 abril 2018.

Beal, R., & Betts, W. B. (2000). *Role of rhamnolipid biosurfactants in the uptake and mineralization of hexadecane in Pseudomonas aeruginosa. Journal of Applied Microbiology, 89(1), 158–168.* doi:10.1046/j.1365-2672.2000.01104.x

Benndorf, D., Balcke, G. U., Harms, H., e von Bergen, M. (2007). *Functional metaproteome analysis of protein extracts from contaminated soil and groundwater. The ISME Journal, 1(3), 224–234.* doi:10.1038/ismej.2007.39

Bhasheer, S.K., Umavathi, S., Banupriya, D., Thangavel, M., Thangam, Y. (2014). *Diversity of diesel degrading bacteria from a hydrocarbon contaminated soil. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3(11), 363–369.

Bhuvaneswar, C., Swathi, G., Bhaskar, B.V., Munichandrababu, T., Rajendra, W. (2012). *Effective synergetic biodegradation of diesel oil by bacteria. Int. J. Environ. Biol. 2, 195-199.*

Bhuvaneswar, C., Swathi, G., Vijaya Bhaskar, B., Munichandrababu, T., Rajendra, W. (2012). *Effective synergetic biodegradation of diesel oil by bacteria. International Journal of Environmental Biology, 2, 195–199.*

Bowen, R. E., e Depledge, M. H. (2006). *Rapid Assessment of Marine Pollution (RAMP). Marine Pollution Bulletin, 53(10-12), 631–639.* doi:10.1016/j.marpolbul.2006.09.002

Bozinovski, D., Taubert, M., Kleinsteuber, S., Richnow, H.-H., von Bergen, M., Vogt, C., e Seifert, J. (2014). *Metaproteogenomic analysis of a sulfate-reducing enrichment culture reveals*

genomic organization of key enzymes in the m-xylene degradation pathway and metabolic activity of proteobacteria. Systematic and Applied Microbiology, 37(7), 488–501. doi:10.1016/j.syapm.2014.07.005.

Brauner, C., Ballantyne, C. ., Vijayan, M. ., & A.L, V. (1999). *Crude oil exposure affects air-breathing frequency, blood phosphate levels and ion regulation in an air-breathing teleost fish, Hoplosternum littorale. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 123(2), 127–134.* doi:10.1016/s0742-8413(99)00018-3

Breitwieser, M., Thomas-Guyon, H., Huet, V., Sagerup, K., & Geraudie, P. (2018). *Spatial and temporal impacts of the Skjervøy harbour diesel spill on native population of blue mussels: A sub-Arctic case study. Ecotoxicology and Environmental Safety, 153, 168–174.* doi:10.1016/j.ecoenv.2018.01.033

Brouk, M., Derry, N.-L., Shainsky, J., Zelas, Z. B.-B., Boyko, Y., Dabush, K., Fishman, A. (2010). *The influence of key residues in the tunnel entrance and the active site on activity and selectivity of toluene-4-monooxygenase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 66(1-2), 72–80. doi:10.1016/j.molcatb.2010.03.006

Bushnell L. D. e Haas H. F. (1941). *The Utilization of Certain Hydrocarbons By Microorganisms'. J Bacteriol*, n. 199, p. 653–673. doi:10.1128/jb.41.5.653-673.1941

Campeão, M. E., Reis, L., Leomil, L., de Oliveira, L., Otsuki, K., Gardinali, P., Pelz, O., Valle, R., Thompson, F. L.,Thompson, C. C. (2017). *The Deep-Sea Microbial Community from the Amazonian Basin Associated with Oil Degradation. Frontiers in Microbiology, 8, 1019*. doi:10.3389/fmicb.2017.01019

Catania, V., Lopresti, F., Cappello, S., Scaffaro, R., e Quatrini, P. (2020). *Innovative, ecofriendly biosorbent-biodegrading biofilms for bioremediation of oil- contaminated water. New Biotechnology.* doi:10.1016/j.nbt.2020.04.001

Chandankere, R., Yao, J., Cai, M., Masakorala, K., Jain, A. K., e Choi, M. M. F. (2014). *Properties and characterization of biosurfactant in crude oil biodegradation by bacterium Bacillus methylotrophicus USTBa. Fuel, 122, 140–148.* doi:10.1016/j.fuel.2014.01.023

Chen, B.-Y., You, J.-W., Hsieh, Y.-T., e Chang, J.-S. (2008). *Feasibility study of exponential feeding strategy in fed-batch cultures for phenol degradation using Cupriavidus taiwanensis. Biochemical Engineering Journal, 41(2), 175–180.* doi:10.1016/j.bej.2008.04.012

Chen, Y.-A., Liu, P.-W. G., Whang, L.-M., Wu, Y.-J., & Cheng, S.-S. (2019). *Biodegradability and microbial community investigation for soil contaminated with diesel blending with biodiesel. Process Safety and Environmental Protection*. doi:10.1016/j.psep.2019.07.001

Claxton, L. D. (2015). *The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions. Part 3: Diesel and gasoline. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 763, 30–85.* doi:10.1016/j.mrrev.2014.09.002

Cohen, A., Gagnon, M., Nugegoda, D. (2005). *Alterations of metabolic enzymes in Australian Bass, Macquaria novemaculeata, efter exposure to petroleum hydrocarbons. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 49(2):200-205.* doi: 10.1007/s00244-004-0174-1

Couceiro, S. R. M., Hamada, N., Ferreira, R. L. M., Forsberg, B. R., & da Silva, J. O. (2006). *Domestic Sewage and Oil Spills in Streams: Effects on Edaphic Invertebrates in Flooded Forest, Manaus, Amazonas, Brazil. Water, Air, and Soil Pollution, 180(1-4), 249–259.* doi:10.1007/s11270-006-9267-y

Cowan, D., Meyer, Q., Stafford, W., Muyanga, S., Cameron, R., & Wittwer, P. (2005). *Metagenomic gene discovery: past, present and future. Trends in Biotechnology, 23(6), 321–329.* doi:10.1016/j.tibtech.2005.04.001

Cruz, J. M., Tamada, I. S., Lopes, P. R. M., Montagnolli, R. N., & Bidoia, E. D. (2014). *Biodegradation and Phytotoxicity of Biodiesel, Diesel, and Petroleum in Soil. Water, Air, & Soil Pollution, 225(5)*. doi:10.1007/s11270-014-1962-5

Daniel, R. (2005). *The metagenomics of soil*. *Nature Reviews Microbiology*, v. 3, n. 6, p. 470–478.

Das, N., & Chandran, P. (2011). *Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. Biotechnology Research International, 2011, 1–13.* doi:10.4061/2011/941810

David I. Little, D. I., Sheppard, S. R. J., Hulme, D. (2021). *A perspective on oil spills: What we should have learned about global warming. Ocean and Coastal Management 202 (2021) 105509.* doi: https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2020.105509

De Pauli, A. R., Espinoza-Quiñones, F. R., Dall'Oglio, I. C., Trigueros, D. E. G., Módenes, A. N., Ribeiro, C., … Kroumov, A. D. (2017). *New insights on abatement of organic matter and reduction of toxicity from landfill leachate treated by the electrocoagulation process. Journal of Environmental Chemical Engineering, 5(6), 5448–5459.* doi:10.1016/j.jece.2017.10.017

Deng, S. -K. ; Zhou, N. -Y. (2021). *The genetic determinants of 4-chloro-2-nitrophenol degradation in Cupriavidus sp. strain NyZ417. International biodeterioration & biodegradation*,158, 105170. doi: 10.1016/j.ibiod.2020.105170

Díaz, E. (2004). *Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolic versatility. International Microbiology , 7:173–180.*

Dicker, L., Lin, X., & Ivanov, A. R. (2010). *Increased Power for the Analysis of Label-free LC-MS/MS Proteomics Data by Combining Spectral Counts and Peptide Peak Attributes. Molecular & Cellular Proteomics, 9(12), 2704–2718.* doi:10.1074/mcp.m110.002774

Doshi, B., Sillanpää, M., & Kalliola, S. (2018). *A review of bio-based materials for oil spill treatment. Water Research, 135, 262–277*. doi:10.1016/j.watres.2018.02.034

DPC - Diretoria de Portos e Costas, Marinha do Brasil. (2021). *Inquéritos Administrativos sobre Acidentes e Fatos da Navegação (IAFNs) - Quadros Estatísticos de IAFNs.* Disponível em: https://www.marinha.mil.br/dpc/acidentes-de-navegacao2. Acesso: 17 de março de 2021.

Duan, W., Meng, F., Peng, X., Lin, Y., Wang, G., & Wu, J. (2019). *Kinetic analysis and degradation mechanism for natural attenuation of xylenes under simulated marine conditions. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 168, 443–449. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.10.103

Duarte, R. M., & Val, A. L. (2020). *Water-related problem with special reference to global climate change in Brazil. Water Conservation and Wastewater Treatment in BRICS Nations, 3–21*. doi:10.1016/b978-0-12-818339-7.00001-1

Duarte, R. M., Honda, R. T., & Val, A. L. (2010). *Acute effects of chemically dispersed crude oil on gill ion regulation, plasma ion levels and haematological parameters in tambaqui (Colossoma macropomum). Aquatic Toxicology, 97(2), 134–141.* doi:10.1016/j.aquatox.2009.12.020

Durval, I. J. B., Mendonça, A. H. R., Rocha, I. V., Luna, J. M., Rufino, R. D., Converti, A., & Sarubbo, L. A. (2020). *Production, characterization, evaluation and toxicity assessment of a Bacillus cereus UCP 1615 biosurfactant for marine oil spills bioremediation. Marine Pollution Bulletin, 157, 111357.* doi:10.1016/j.marpolbul.2020.111357

Eidani, S. Z., Shahraki, M. K., Gasemisakha, F., Hashemi, M., & Bambai, B. (2011*). Cloning and expression of alkane hydroxylase-1 from Alcanivorax borkumensis in Escherichia coli. Toxicology and Industrial Health*, 28(6), 560–565. doi:10.1177/0748233711416953

Errampalli, D. (1999). *Bacterial survival and mineralization of p-nitrophenol in soil by green fluorescent protein-marked Moraxella sp. G21 encapsulated cells. FEMS Microbiology Ecology, 30(3), 229–236.* doi:10.1016/s0168-6496(99)00059-8

Ferrer, M., Beloqui, A., Timmis, K. N., & Golyshin, P. N. (2009). *Metagenomics for Mining New Genetic Resources of Microbial Communities. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 16(1-2), 109–123.* doi:10.1159/000142898

Fisher, C. R., Hsing, P.-Y., Kaiser, C. L., Yoerger, D. R., Roberts, H. H., Shedd, W. W., Cordese, E. E., Shankf, T. M., Berleta, S. P., Saundersa, M. G., Larcoma, E. A., Brooks, J. M. (2014). *Footprint of Deepwater Horizon blowout impact to deep-water coral communities. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(32), 11744–11749.* doi:10.1073/pnas.1403492111

García-Cruz, N. U., Valdivia-Rivera, S., Narciso-Ortiz, L., García-Maldonado, J. Q., Uribe-Flores, M. M., Aguirre-Macedo, M. L., & Lizardi-Jiménez, M. A. (2019). *Diesel uptake by an indigenous microbial consortium isolated from sediments of the Southern Gulf of Mexico: Emulsion characterisation. Environmental Pollution.* doi:10.1016/j.envpol.2019.04.109

Ghazali, F. M., Rahman, R. N. Z. A., Salleh, A. B., & Basri, M. (2004). *Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. International Biodeterioration & Biodegradation, 54(1), 61–67.* doi:10.1016/j.ibiod.2004.02.002

Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). *Current State of Knowledge in Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review. Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01369.

Govindasamy, B., Pecoraro, L., Velramar, B., Tamilselvan, S., Ayyasamy Pudukadu Munusamy, A. P., Chinnasamy, R., Pachiappan, P. (2019). *Evaluation of Salmonella bongori derived biosurfactants and its extracellular protein separation by SDS-PAGE using petridishes: A simply modified approach. International Journal of Biological Macromolecules.* doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.08.034

Grifoni, M., Rosellini, I., Angelini, P., Petruzzelli, G., & Pezzarossa, B. (2020). *The effect of residual hydrocarbons in soil following oil spillages on the growth of Zea mays plants. Environmental Pollution, 265, 114950.* doi:10.1016/j.envpol.2020.114950

Guazzaroni, M.-E., Herbst, F.-A., Lores, I., Tamames, J., Peláez, A. I., López-Cortés, N., … Ferrer, M. (2013). *Metaproteogenomic insights beyond bacterial response to naphthalene exposure and bio-stimulation. The ISME Journal, 7(1), 122–136.* doi:10.1038/ismej.2012.82

Gupta, B., Puri, S., Thakur, I. S., & Kaur, J. (2020). *Enhanced pyrene degradation by a biosurfactant producing Acinetobacter baumannii BJ5: Growth kinetics, toxicity and substrate inhibition studies. Environmental Technology & Innovation, 100804.* doi:10.1016/j.eti.2020.100804

Gupte, A., Tripathi, A., Patel, H., Rudakiya, D., Gupte, S. (2016). *Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs): A Perspective. The Open Biotechnology Journal, 10, 2, 363-378.* doi: 10.2174/1874070701610010363

Gurav, R., Lyu, H., Ma, J., Tang, J., Liu, Q., & Zhang, H. (2017). *Degradation of n-alkanes and PAHs from the heavy crude oil using salt-tolerant bacterial consortia and analysis of their catabolic genes. Environmental Science and Pollution Research, 24(12), 11392–11403.* doi:10.1007/s11356-017-8446-2

Hanson, K. G., Desai, J. D., & Desai, A. J. (1993). *A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. Biotechnology Techniques, 7(10), 745–748.* doi:10.1007/bf00152624

Hasanuzzaman, M., Ueno, A., Ito, H., Ito, Y., Yamamoto, Y., Yumoto, I., & Okuyama, H. (2007). *Degradation of long-chain n-alkanes (C36 and C40) by Pseudomonas aeruginosa strain WatG. International Biodeterioration & Biodegradation, 59(1), 40–43.* doi:10.1016/j.ibiod.2006.07.010

Heyer, R., Schallert, K., Zoun, R., Becher, B., Saake, G., & Benndorf, D. (2017). *Challenges and perspectives of metaproteomic data analysis. Journal of Biotechnology, 261, 24–36.* doi:10.1016/j.jbiotec.2017.06.1201

Hirakawa, H., Hirakawa, Y., Greenberg, E. P., & Harwood, C. S. (2015). *BadR and BadM Proteins Transcriptionally Regulate Two Operons Needed for Anaerobic Benzoate Degradation by Rhodopseudomonas palustris. Applied and Environmental Microbiology, 81(13), 4253–4262.* doi:10.1128/aem.00377-15

Hlordzi, V., Kuebutornye, F. K. A., Afriyie, G., Abarike, E. D., Lu, Y., Chi, S., & Anokyewaa, M. A. (2020). *The use of Bacillus species in maintenance of water quality in aquaculture: A review. Aquaculture Reports*, 18, 100503. doi:10.1016/j.aqrep.2020.100503

Hlordzi, V., Kuebutornye, F. K. A., Afriyie, G., Abarike, E. D., Lu, Y., Chi, S., & Anokyewaa, M. A. (2020). *The use of Bacillus species in maintenance of water quality in aquaculture: A review. Aquaculture Reports, 18, 100503.* doi:10.1016/j.aqrep.2020.100503

Horel, A., & Schiewer, S. (2014). *Influence of inocula with prior hydrocarbon exposure on biodegradation rates of diesel, synthetic diesel, and fish-biodiesel in soil. Chemosphere, 109, 150–156.* doi:10.1016/j.chemosphere.2014.01.073

Horodesky, A., Abilhoa, V., Zeni, T. de O., Montanhini Neto, R., Castilho-Westphal, G. G., Ostrensky, A. (2015). *Ecological analysis of the ichthyofaunal community ten years after a diesel oil spill at Serra do Mar, Paraná state, Brazil. Global Ecology and Conservation, 4, 311–320.* doi:10.1016/j.gecco.2015.07.010

Ibrar, M., e Zhang, H. (2020). *Construction of a hydrocarbon-degrading consortium and characterization of two new lipopeptides biosurfactants. Science of The Total Environment, 136400.* doi:10.1016/j.scitotenv.2019.136400

Ijah, U. J. . (1998). *Studies on relative capabilities of bacterial and yeast isolates from tropical soil in degrading crude oil. Waste Management, 18(5), 293–299*. doi:10.1016/s0956-053x(98)00037-3

Imron, M. F., Kurniawan, S. B., & Titah, H. S. (2019). *Potential of bacteria isolated from diesel-contaminated seawater in diesel biodegradation. Environmental Technology & Innovation, 14, 100368.* doi:10.1016/j.eti.2019.100368

Imron, M. F., Kurniawan, S. B., Ismail, N. 'Izzati, & Abdullah, S. R. S. (2020). *Future challenges in diesel biodegradation by bacteria isolates: A review. Journal of Cleaner Production, 251, 119716.* doi:10.1016/j.jclepro.2019.119716

Imron, M. F., Titah, H. S. (2018). *Optimization of diesel biodegradation by Vibrio alginolyticus using Box-Behnken design. Environ. Eng. Res*. 23(4), 374e382. doi:10.4491/eer.2018.015.

Inès, M., e Dhouha, G. (2015). *Lipopeptide surfactants: Production, recovery and pore forming capacity. Peptides, 71, 100–112.* doi:10.1016/j.peptides.2015.07.006

Inomata, S., Fushimi, A., Sato, K., Fujitani, Y., & Yamada, H. (2015). *4-Nitrophenol, 1-nitropyrene, and 9-nitroanthracene emissions in exhaust particles from diesel vehicles with different exhaust gas treatments. Atmospheric Environment, 110, 93–102.* doi:10.1016/j.atmosenv.2015.03.043

Inoue, J., Shaw, J. P., Rekik, M., & Harayama, S. (1995). *Overlapping substrate specificities of benzaldehyde dehydrogenase (the xylC gene product) and 2-hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase (the xylG gene product) encoded by TOL plasmid pWW0 of Pseudomonas putida. Journal of Bacteriology*, 177(5), 1196–1201. doi:10.1128/jb.177.5.1196-1201.1995

IPAAM – Instituto de Proteção Ambiental do Amazonas. (2018). Disponível em:http://www.ipaam.am.gov.br/ipaam-aplica-multa-de-r-25-milhoes-em-empresa-por-vazamento-de-oleo-no-mauazinho/. Acesso: 17 de março de 2021.

IPAAM – Instituto de Proteção Ambiental do Amazonas. (2019). Disponível em: http://www.ipaam.am.gov.br/ipaam-acompanha-medidas-para-contencao-de-vazamento-no-rio-negro/. Acesso: 17 de março de 2021.

Isiodu, G. G., Stanley, H. O., Ezebuiro, V., Okerentugba, P. O. (2016). *Role of Plasmid-Borne Genes in the Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by Consortium of Aerobic Heterotrophic Bacteria. Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology, 07(01)*. doi:10.4172/2157-7463.1000264

Isola, D., Selbmann, L., de Hoog, G. S., Fenice, M., Onofri, S., Prenafeta-Boldú, F. X., & Zucconi, L. (2013). *Isolation and Screening of Black Fungi as Degraders of Volatile Aromatic Hydrocarbons. Mycopathologia*, 175(5-6), 369–379. doi:10.1007/s11046-013-9635-2.

Jia, X., Liu, C., Song, H., Ding, M., Du, J., Ma, Q., & Yuan, Y. (2016). *Design, analysis and application of synthetic microbial consortia. Synthetic and Systems Biotechnology, 1(2), 109–117*. doi:10.1016/j.synbio.2016.02.001

Jin, R., Zheng, M., Lammel, G., Benjamin A., Bandowe, M., Liu, G. *Chlorinated and brominated polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, formation mechanisms, and occurrence in the environment. Progress in Energy and Combustion Science 76 (2020) 100803.* doi:10.1016/j.pecs.2019.100803.

Joo, M. H., & Kim, J. Y. (2013). *Characteristics of crude oil biodegradation by biosurfactant-producing bacterium Bacillus subtilis JK-1. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 56(2), 193–200.* doi:10.1007/s13765-012-3269-9

Juhasz, A. L., Britz, M. L., & Stanley, G. A. (1997). *Degradation of fluoranthene, pyrene, benz[a]anthracene and dibenz[a,h]anthracene by Burkholderia cepacia. Journal of Applied Microbiology, 83(2), 189–198.* doi:10.1046/j.1365-2672.1997.00220.x

Kaczorek, E., Chrzanowski, Ł., Pijanowska, A., & Olszanowski, A. (2008). *Yeast and bacteria cell hydrophobicity and hydrocarbon biodegradation in the presence of natural surfactants:*

Rhamnolipides and saponins. Bioresource Technology, 99(10), 4285–4291. doi:10.1016/j.biortech.2007.08.049

Kadri, T., Magdouli, S., Rouissi, T., Brar, S. K., Daghrir, R., & Lauzon, J.-M. (2018*). Bench-scale production of enzymes from the hydrocarbonoclastic bacteria Alcanivorax borkumensis and biodegradation tests. Journal of Biotechnology, 283, 105–114.* doi:10.1016/j.jbiotec.2018.07.039

Kadri, T., Rouissi, T., Kaur Brar, S., Cledon, M., Sarma, S., & Verma, M. (2017). *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: A review. Journal of Environmental Sciences*, 51, 52–74. doi:10.1016/j.jes.2016.08.023

Karlapudi, A. P., Venkateswarulu, T. C., Tammineedi, J., Kanumuri, L., Ravuru, B. K., Dirisala, V. ramu, & Kodali, V. P. (2018). *Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. Petroleum, 4(3), 241–249.* doi:10.1016/j.petlm.2018.03.007

Karlsson, R., Thorsell, A., Gomila, M., Salvà-Serra, F., Jakobsson, H. E., Gonzales-Siles, L., … Moore, E. (2020). *Discovery of species-unique peptide biomarkers of bacterial pathogens by tandem mass spectrometry-based proteotyping. Molecular & Cellular Proteomics, mcp.RA119.001667.* doi:10.1074/mcp.ra119.001667

Katsumiti, A., Domingos, F., Azevedo, M., da Silva, M., Damian, R., Almeida, M., de Assis, H., Cestari, M., Randi, M., Ribeiro, C., Freire, C. (2009). *An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish (Cathorops spixii) after the Vicuña Oil Spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil. Environmental Monitoring and Assessment, 152,(1):209-222*. doi:10.1007/s10661-008-0309-3

Kebria, D. Y., Khodadadi, A., Ganjidoust, H., Badkoubi, A., & Amoozegar, M. A. (2009). *Isolation and characterization of a novel native Bacillus strain capable of degrading diesel fuel. International Journal of Environmental Science & Technology, 6(3), 435–442.* doi:10.1007/bf03326082

Khalid, F. E., Lim, Z. S., Sabri, S., Gomez-Fuentes, C., Zulkharnain, A., Ahmad, S. A. (2021). *Bioremediation of Diesel Contaminated Marine Water by Bacteria: A Review and Bibliometric Analysis. Journal of Marine Science and Engineering, 9, 155.* https://doi.org/10.3390/jmse9020155

Khan, N., Warith, M. A., & Luk, G. (2007). *A Comparison of Acute Toxicity of Biodiesel, Biodiesel Blends, and Diesel on Aquatic Organisms. Journal of the Air & Waste Management Association, 57(3), 286-296.* doi:10.1080/10473289.2007.10465333

Kimerling, J. (2006). *Indigenous Peoples and the Oil Frontier in Amazonia: The Case of Ecuador, Chevrontexaco, and Aguinda v. Texaco*. *New York University Journal of International Law and Policy*, v. 38, p. 413.

Kimerling, J. (2013). *Oil, Contact, and Conservation in the Amazon: Indigenous Huaorani, Chevron, and Yasuni. Colorado Journal of International Environmental Law and Policy*, v. 24, n. 1, p. 43–115.

Kirby, M. F., & Law, R. J. (2010). *Accidental spills at sea – Risk, impact, mitigation and the need for co-ordinated post-incident monitoring. Marine Pollution Bulletin, 60(6), 797–803.* doi:10.1016/j.marpolbul.2010.03.015

Kochhann, D., Meyersieck Jardim, M., Valdez Domingos, F. X., & Luis Val, A. (2015). *Biochemical and behavioral responses of the Amazonian fish Colossoma macropomum to crude oil: The effect of oil layer on water surface. Ecotoxicology and Environmental Safety, 111, 32–41*. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.09.016

Konstantinou, I. K., Albanis, T. A. (2003). *Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: intermediates and degradation pathways. Applied Catalysis B: Environmental, 42(4), 319–335*. doi:10.1016/s0926-3373(02)00266-7

Koslowski, L. A. D., Licodiedoff, S., Simionatto, E. L., Scharf, D. R., Vaz, C., & Riella, H. G. (2020). *Assessment of the formation of aromatic polycyclic hydrocarbons and acute toxicity using diesel/butanol in a wet discharge pilot system for river boats. Journal of Environmental Chemical Engineering, 103532.* doi:10.1016/j.jece.2019.103532

Kunze, M., Pracharoenwattana, I., Smith, S. M., & Hartig, A. (2006). *A central role for the peroxisomal membrane in glyoxylate cycle function. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1763(12), 1441–1452. doi:10.1016/j.bbamcr.2006.09.009

Kurbatov, L., Albrecht, D., Herrmann, H., & Petruschka, L. (2006). *Analysis of the proteome of Pseudomonas putida KT2440 grown on different sources of carbon and energy. Environmental Microbiology, 8(3), 466–478.* doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00913.x

Lai, C.-C., Chen, S.-Y., Chen, M.-H., Chen, H.-L., Hsiao, H.-T., Liu, L.-C., & Chen, C.-M. (2019). *Preparation and characterization of heterocyclic polyamide 6 (PA 6) with high transparencies and low hygroscopicities. Journal of Molecular Structure, 1175, 836–843.* doi:10.1016/j.molstruc.2018.08.032

Lee, Y., Jeong, S. E., Hur, M., Ko, S., & Jeon, C. O. (2018). *Construction and Evaluation of a Korean Native Microbial Consortium for the Bioremediation of Diesel Fuel-Contaminated Soil in Korea. Frontiers in Microbiology, 9.* doi:10.3389/fmicb.2018.02594

Leung, K. T., Moore, M., Lee, H., & Trevors, J. T. (2005). *Effect of carbon starvation on p-nitrophenol degradation by a Moraxella strain in buffer and river water. FEMS Microbiology Ecology, 51(2), 237–245.* doi:10.1016/j.femsec.2004.08.007

Leuthner, B., & Heider, J. (2000). *Anaerobic Toluene Catabolism of Thauera aromatica: the bbs Operon Codes for Enzymes of beta Oxidation of the Intermediate Benzylsuccinate. Journal of Bacteriology*, 182(2), 272–277. doi:10.1128/jb.182.2.272-277.2000

Li, C.-M., Wu, H.-Z., Wang, Y.-X., Zhu, S., & Wei, C.-H. (2020b). *Enhancement of Phenol Biodegradation: Metabolic Division of Labor in Co-culture of Stenotrophomonas sp. N5 and Advenella sp. B9. Journal of Hazardous Materials, 400, 123214*. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123214

Li, C., Wang, H., Zhou, L., Zhang, Y., Song, F., & Zhang, J. (2009). *Quantitative measurement of pH influence on SalR regulated gene expression in Acinetobacter baylyi ADP1. Journal of Microbiological Methods, 79(1), 8–12.* doi:10.1016/j.mimet.2009.07.004

Li, J., de Toledo, R. A., & Shim, H. (2017). *Multivariate optimization for the simultaneous bioremoval of BTEX and chlorinated aliphatic hydrocarbons by Pseudomonas plecoglossicida. Journal of Hazardous Materials, 321, 238–246.* doi:10.1016/j.jhazmat.2016.09.020.

Li, Q., Li, J., Jiang, L., Sun, Y., Luo, C., & Zhang, G. (2020a). *Diversity and structure of phenanthrene degrading bacterial communities associated with fungal bioremediation in petroleum contaminated soil. Journal of Hazardous Materials, 123895.* doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123895

Li, Y.-Y., Liu, H., Xu, Y., & Zhou, N.-Y. (2019). *A two-component monooxygenase initiates a novel 2-bromo-4-nitrophenol catabolic pathway in newly isolated Cupriavidus sp. strain NyZ375. International Biodeterioration & Biodegradation, 140, 99–105.* doi:10.1016/j.ibiod.2019.03.013

Li, Y., Wu, S., Wang, S., Zhao, S., Zhuang, X. (2021). *Anaerobic degradation of xenobiotic organic contaminants (XOCs): The role of electron flow and potential enhancing strategies. Journal of Environmental Sciences, 101, 397–412.* doi:10.1016/j.jes.2020.08.030

Liang, S. H., Kao, C. M., Kuo, Y. C., Chen, K. F., & Yang, B. M. (2011). *In situ oxidation of petroleum-hydrocarbon contaminated groundwater using passive ISCO system. Water Research, 45(8), 2496–2506.* doi:10.1016/j.watres.2011.02.005

Liu, C., Wang, W., Wu, Y., Zhou, Z., Lai, Q., & Shao, Z. (2011). *Multiple alkane hydroxylase systems in a marine alkane degrader, Alcanivorax dieselolei B-5. Environmental Microbiology, 13(5), 1168–1178*. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02416.x

Liu, H., Sadygov, R. G., & Yates, J. R. (2004). *A Model for Random Sampling and Estimation of Relative Protein Abundance in Shotgun Proteomics. Analytical Chemistry, 76(14), 4193–4201.* doi:10.1021/ac0498563

Liu, J., Zhao, B., Lan, Y., Ma, T. (2021). *Enhanced degradation of different crude oils by defined engineered consortia of Acinetobacter venetianus RAG-1 mutants based on their alkane metabolism Bioresource Technology, 327, 124787.* doi:10.1016/j.biortech.2021.124787

Liu, S.-H., Zeng, G.-M., Niu, Q.-Y., Liu, Y., Zhou, L., Jiang, L.-H., Cheng, M. (2017). *Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. Bioresource Technology*, 224, 25–33. doi:10.1016/j.biortech.2016.11.095

Logeshwaran, P., Megharaj, M., Chadalavada, S., Bowman, M., & Naidu, R. (2018). *Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation approaches. Environmental Technology & Innovation, 10, 175–193.* doi:10.1016/j.eti.2018.02.001

Luyten, L. J., Dieu, M., Demazy, C., Fransolet, M., Nawrot, T. S., Renard, P., & Chainiaux, F. D. (2020). *Optimization of label-free nano LC-MS/MS analysis of the placental proteome. Placenta, 101, 159-162.* doi:10.1016/j.placenta.2020.09.013

Maddela, N. R., Masabanda, M., & Leiva-Mora, M. (2015). *Novel diesel-oil-degrading bacteria and fungi from the Ecuadorian Amazon rainforest. Water Science and Technology, 71(10), 1554–1561.* doi:10.2166/wst.2015.142

Maddela, N. R., Scalvenzi, L., & Venkateswarlu, K. (2017). *Microbial degradation of total petroleum hydrocarbons in crude oil: a field-scale study at the low-land rainforest of Ecuador. Environmental Technology, 38(20), 2543–2550.* doi:10.1080/09593330.2016.1270356

Malik, S., Jangra Darolia, P., Garg, S. K., & Sharma, V. K. (2020). *Densities and excess molar volumes of mixtures containing diesel, biodiesel and alkanols at temperatures from 288.15 to 313.15 K. Chinese Journal of Chemical Engineering.* doi:10.1016/j.cjche.2020.09.065

Marchand, C., St-Arnaud, M., Hogland, W., Bell, T. H., & Hijri, M. (2017). *Petroleum biodegradation capacity of bacteria and fungi isolated from petroleum-contaminated soil. International Biodeterioration & Biodegradation, 116, 48–57.* doi:10.1016/j.ibiod.2016.09.030

Mariano, A. P., Bonotto, D. M., Angelis, D. F., Pirollo, M. P. S., Contiero, J. (2008). *Biodegradability of commercial and weathered diesel oils. Braz. J. Microbiol. 39 (1), 133-142*.

Martins, L. S., Monticelli, F. M., & Mulinari, D. R. (2020). *Influence of the granulometry and fiber content of palm residues on the diesel S-10 oil sorption in polyurethane /palm fiber biocomposites. Results in Materials, 8, 100143*. doi:10.1016/j.rinma.2020.100143

Matsuo, A. Y. O., Woddin, B. R., Reddy, C. M., Val, A. L., Stegeman, J. J. (2006). *Humic substances and crude oil induce cytochrome P450 1A expression in the Amazonian fish species Colossoma macropomum (tambaqui). Environmental Science & Technology, 40:2851-2858.* doi:10.1021/es052437i

Mega, E. R. (2016). *Oil spills stain Peruvian Amazon. Scientific American*. http://www.scientificamerican.com/article/oil-spills-stain-peruvian-amazon/.

Meira, R. M. S. A., Peixoto, A. L., Coelho, M. A. N., Ponzo, A. P. L., Esteves, V. G. L., Silva, M. C., … Meira-Neto, J. A. A. (2016). *Brazil's mining code under attack: giant mining companies impose unprecedented risk to biodiversity. Biodiversity and Conservation, 25(2), 407–409.* doi:10.1007/s10531-016-1050-9

Menezes, E. W., Silva, R. da, Cataluna, R., & Ortega, R. (2006). *Effect of ethers and ether/ethanol additives on the physicochemical properties of diesel fuel and on engine tests. Fuel, 85(5-6), 815–822.* doi:10.1016/j.fuel.2005.08.027

Min, J., Chen, W., & Hu, X. (2019). *Biodegradation of 2,6-dibromo-4-nitrophenol by Cupriavidus sp. strain CNP-8: Kinetics, pathway, genetic and biochemical characterization. Journal of Hazardous Materials.* doi:10.1016/j.jhazmat.2018.08.063

Min, J., Xu, L., Fang, S., Chen, W., & Hu, X. (2020). *Microbial degradation kinetics and molecular mechanism of 2,6-dichloro-4-nitrophenol by a Cupriavidus strain. Environmental Pollution, 113703.* doi:10.1016/j.envpol.2019.113703

Miri, M., Bambai, B., Tabandeh, F., Sadeghizadeh, M., & Kamali, N. (2009). *Production of a recombinant alkane hydroxylase (AlkB2) from Alcanivorax borkumensis. Biotechnology Letters*, 32(4), 497–502. doi:10.1007/s10529-009-0177-0

Mishra, S., Sarma, P. M., Lal, B., 2004. *Crude oil degradation efficiency of a recombinant Acinetobacter baumannii strain and its survival in crude oil contaminated soil micro- cosm. FEMS Microbiol. Lett. 235, 323–331.* doi:10.1016/j.femsle.2004.05.002

Misiak, K., Casey, E., & Murphy, C. D. (2011). *Factors influencing 4-fluorobenzoate degradation in biofilm cultures of Pseudomonas knackmussii B13. Water Research*, 45(11), 3512–3520. doi:10.1016/j.watres.2011.04.020

Mnif, I., Mnif, S., Sahnoun, R., Maktouf, S., Ayedi, Y., Ellouze-Chaabouni, S., & Ghribi, D. (2015). *Biodegradation of diesel oil by a novel microbial consortium: comparison between co-inoculation with biosurfactant-producing strain and exogenously added biosurfactants. Environmental Science and Pollution Research, 22(19), 14852–14861.* doi:10.1007/s11356-015-4488-5

Mnif, I., Sahnoun, R., Ellouz-Chaabouni, S., & Ghribi, D. (2017). *Application of bacterial biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of diesel oil in soil using a newly isolated consortium. Process Safety and Environmental Protection, 109, 72–81.* doi:10.1016/j.psep.2017.02.002

Módenes, A. N., Sanderson, K., Trigueros, D. E. G., Schuelter, A. R., Espinoza-Quiñones, F. R., Neves, C. V., … Kroumov, A. D. (2018). *Insights on the criteria of selection of vegetable and mineral dielectric fluids used in power transformers on the basis of their biodegradability and toxicity assessments. Chemosphere, 199, 312–319.* doi:10.1016/j.chemosphere.2018.02.033

Mohammed, A. B. A., Tayel, A. A., & Elguindy, N. M. (2018). *Production of new rhamnolipids Rha C16-C16 by Burkholderia sp. through biodegradation of diesel and biodiesel. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences.* doi:10.1016/j.bjbas.2018.05.003

Mohanty, G., & Mukherji, S. (2008). *Biodegradation rate of diesel range n-alkanes by bacterial cultures Exiguobacterium aurantiacum and Burkholderia cepacia. International Biodeterioration & Biodegradation, 61(3), 240–250.* doi:10.1016/j.ibiod.2007.06.011

Mojiri, A., Zhou, J. L., Ohashi, A., Ozaki, N., & Kindaichi, T. (2019). *Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. Science of The Total Environment, 133971.* doi:10.1016/j.scitotenv.2019.133971

Montagnolli, R. N., Lopes, P. R. M., & Bidoia, E. D. (2015). *Screening the Toxicity and Biodegradability of Petroleum Hydrocarbons by a Rapid Colorimetric Method. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 68(2), 342–353.* doi:10.1007/s00244-014-0112-9

Morales-Guzmán, G., Ferrera-Cerrato, R., Rivera-Cruz, M. del C., Torres-Bustillos, L. G., Arteaga-Garibay, R. I., Mendoza-López, M. R., … Alarcón, A. (2017). *Diesel degradation by emulsifying bacteria isolated from soils polluted with weathered petroleum hydrocarbons. Applied Soil Ecology, 121, 127–134.* doi:10.1016/j.apsoil.2017.10.003

Morlett-Chávez, J. A., Ascacio-Martínez, J. Á., Rivas-Estilla, A. M., Velázquez-Vadillo, J. F., Haskins, W. E., Barrera-Saldaña, H. A., & Acuña-Askar, K. (2010). *Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it. International Biodeterioration & Biodegradation, 64(7), 581–587.* doi:10.1016/j.ibiod.2010.06.010

Morya, R., Salvachúa, D., & Thakur, I. S. (2020). *Burkholderia: An Untapped but Promising Bacterial Genus for the Conversion of Aromatic Compounds. Trends in Biotechnology.* doi:10.1016/j.tibtech.2020.02.008

Mouafi, F. E., Abo Elsoud, M. M., & Moharam, M. E. (2016). *Optimization of biosurfactant production by Bacillus brevis using response surface methodology. Biotechnology Reports, 9, 31–37.* doi:10.1016/j.btre.2015.12.003

Naidoo, G., Naidoo, Y., & Achar, P. (2010). *Responses of the mangroves Avicennia marina and Bruguiera gymnorrhiza to oil contamination. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 205(5), 357–362.* doi:10.1016/j.flora.2009.12.033

Natarajan, R., Azerad, R., Badet, B., & Copin, E. (2005). *Microbial cleavage of CF bond. Journal of Fluorine Chemistry,* 126(4), 424–435. doi:10.1016/j.jfluchem.2004.12.001

Nguyen, B.-A. T., Hsieh, J.-L., Lo, S.-C., Wang, S.-Y., Hung, C.-H., Huang, E., Hung,S.-H., Chin, W.-C., Huang, C.-C. (2020). *Biodegradation of dioxins by Burkholderia cenocepacia strain 869T2: Role of 2-haloacid dehalogenase. Journal of Hazardous Materials*, 123347. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123347

Nkem, B. M., Halimoon, N., Yusoff, F. M., Johari, W. L. W., Zakaria, M. P., Medipally, S. R., & Kannan, N. (2016). *Isolation, identification and diesel-oil biodegradation capacities of indigenous hydrocarbon-degrading strains of Cellulosimicrobium cellulans and Acinetobacter baumannii from tarball at Terengganu beach, Malaysia. Marine Pollution Bulletin, 107(1), 261–268.* doi:10.1016/j.marpolbul.2016.03.060

O'Callaghan-Gordo, C., Flores, J. A., Lizárraga, P., Okamoto, T., Papoulias, D. M., Barclay, F., Orta-Martínez, M., Kogevinas, M., Astete, J. (2018). *Oil extraction in the Amazon basin and exposure to metals in indigenous populations. Environmental Research, 162, 226–230.* doi:10.1016/j.envres.2018.01.013

Obruca, S., Sedlacek, P., Koller, M., Kucera, D., & Pernicova, I. (2018). *Involvement of polyhydroxyalkanoates in stress resistance of microbial cells: Biotechnological consequences and applications. Biotechnology Advances,* 36(3), 856–870. doi:10.1016/j.biotechadv.2017.12.006

Obuekwe, C. O., Al-Jadi, Z. K., & Al-Saleh, E. S. (2009). *Hydrocarbon degradation in relation to cell-surface hydrophobicity among bacterial hydrocarbon degraders from petroleum-contaminated Kuwait desert environment. International Biodeterioration & Biodegradation, 63(3), 273–279.* doi:10.1016/j.ibiod.2008.10.004

Oliveira, L. M. T. M., Saleem, J., Bazargan, A., Duarte, J. L. da S., McKay, G., & Meili, L. (2021). *Sorption as a rapidly response for Oil Spill accidents: a material and mechanistic approach. Journal of Hazardous Materials, 407, 124842.* doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124842

Olsen, G. H., Sva, E., Carroll, J., Camus, L., De Coen, W., Smolders, R., Øveraas, H., Hylland, K. (2007). *Alterations in the energy budget of Arctic benthic species exposed to oil-related compounds. Aquatic Toxicology, 83(2), 85–92.* doi:10.1016/j.aquatox.2007.03.012

Oyehan, T. A., & Al-Thukair, A. A. (2017). *Isolation and characterization of PAH-degrading bacteria from the Eastern Province, Saudi Arabia. Marine Pollution Bulletin*, 115(1-2), 39–46. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.11.007

Pant, G., Garlapati, D., Agrawal, U., Prasuna, R. G., Mathimani, T., Pugazhendhi, A. (2021). *Biological approaches practised using genetically engineered microbes for a sustainable environment: A review. Journal of Hazardous Materials, 405, 124631.* doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124631

Paul, C. E., Eggerichs, D., Westphal, A. H., Tischler, D., van Berkeld, W. J. H. *Flavoprotein monooxygenases: Versatile biocatalysts. Biotechnology Advances*. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107712

Pazmiño, D. E. T., Winkler, M., Glieder, A., Fraaije, M. W. (2010). *Monooxygenases as biocatalysts: Classification, mechanistic aspects and biotechnological applications. Journal of Biotechnology*, 146(1-2), 9–24. doi:10.1016/j.jbiotec.2010.01.021

Peres, C., Russ, R., Lenke, H., Agathos, S. N. (2001). *Biodegradation of 4-nitrobenzoate, 4-aminobenzoate and their mixtures: new strains, unusual metabolites and insights into pathway regulation. FEMS Microbiology Ecology*, 37(2), 151–159. doi:10.1016/s0168-6496(01)00156-8

Phan, C.-W., Abu Bakar, N. F., & Hamzah, A. (2013). *A Comparative Study on Biosurfactant Activity of Crude Oil–Degrading Bacteria and Its Correlation to Total Petroleum Hydrocarbon Degradation. Bioremediation Journal, 17(4), 240–251.* doi:10.1080/10889868.2013.827621

Pineda, F. J., Antoine, M. D., Demirev, P. A., Feldman, A. B., Jackman, J., Longenecker, M., & Lin, J. S. (2003). *Microorganism Identification by Matrix-Assisted Laser/Desorption*

Ionization Mass Spectrometry and Model-Derived Ribosomal Protein Biomarkers. Analytical Chemistry, 75(15), 3817–3822. doi:10.1021/ac034069b

Poddar, K., Sarkar, D., & Sarkar, A. (2019). *Construction of potential bacterial consortia for efficient hydrocarbon degradation. International Biodeterioration & Biodegradation, 144, 104770.* doi:10.1016/j.ibiod.2019.104770

Purwaningsih, I. S., Hill, G. A., & Headley, J. V. (2004). *Mass transfer and bioremediation of naphthalene particles in a roller bioreactor. Water Research*, 38(8), 2027–2034. doi:10.1016/j.watres.2004.01.035

Putman, N. F., Abreu-Grobois, F. A., Iturbe-Darkistade, I., Putman, E. M., Richards, P. M., & Verley, P. (2015). *Deepwater Horizon oil spill impacts on sea turtles could span the Atlantic. Biology Letters, 11(12), 20150596.* doi:10.1098/rsbl.2015.0596

Ramadass, K., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., & Naidu, R. (2017). *Toxicity of diesel water accommodated fraction toward microalgae, Pseudokirchneriella subcapitata and Chlorella sp. MM3. Ecotoxicology and Environmental Safety, 142, 538–543*. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.04.052

Ramasamy, S., Arumugam, A., & Chandran, P. (2017). *Optimization of Enterobacter cloacae (KU923381) for diesel oil degradation using response surface methodology (RSM). Journal of Microbiology, 55(2), 104–111.* doi:10.1007/s12275-017-6265-2

Ramu, R., Chang, C.-W., Chou, H.-H., Wu, L.-L., Chiang, C.-H., & Yu, S. S.-F. (2011). *Regio-selective hydroxylation of gem-difluorinated octanes by alkane hydroxylase (AlkB). Tetrahedron Letters, 52(23), 2950–2953.* doi:10.1016/j.tetlet.2011.03.101

Ran, J., Qiu, H., Sun, S., & Tian, L. (2018). *Short-term effects of ambient benzene and TEX (toluene, ethylbenzene, and xylene combined) on cardiorespiratory mortality in Hong Kong. Environment International, 117, 91–98*. doi:10.1016/j.envint.2018.04.049

Reyes-Sosa, M. B., Apodaca-Hernández, J. E., & Arena-Ortiz, M. L. (2018). *Bioprospecting for microbes with potential hydrocarbon remediation activity on the northwest coast of the Yucatan Peninsula, Mexico, using DNA sequencing. Science of The Total Environment, 642, 1060–1074.* doi:10.1016/j.scitotenv.2018.06.097

Rizzo, C., Rappazzo, A. C., Michaud, L., De Domenico, E., Rochera, C., Camacho, A., & Lo Giudice, A. (2018). *Efficiency in hydrocarbon degradation and biosurfactant production by Joostella sp. A8 when grown in pure culture and consortia. Journal of Environmental Sciences,* 67, 115–126. doi:10.1016/j.jes.2017.08.007

Rocha e Silva, N. M. P., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2014). *Screening of Pseudomonas species for biosurfactant production using low-cost substrates. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 3(2), 132–139.* doi:10.1016/j.bcab.2013.09.005

Rodrigues, E. M., Cesar, D. E., Santos de Oliveira, R., de Paula Siqueira, T., & Tótola, M. R. (2020). *Hydrocarbonoclastic bacterial species growing on hexadecane: Implications for bioaugmentation in marine ecosystems. Environmental Pollution, 267, 115579*. doi:10.1016/j.envpol.2020.115579

Roell, G. W., Zha, J., Carr, R. R., Koffas, M. A., Fong, S. S., & Tang, Y. J. (2019). *Engineering microbial consortia by division of labor. Microbial Cell Factories, 18(1).* doi:10.1186/s12934-019-1083-3

Roy, S., Hens, D., Biswas, D., Biswas, D., & Kumar, R. (2002). *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18(6), 575–581.* doi:10.1023/a:1016362819746

Rudney, J. D., Xie, H., Rhodus, N. L., Ondrey, F. G., & Griffin, T. J. (2010). *A metaproteomic analysis of the human salivary microbiota by three-dimensional peptide fractionation and tandem mass spectrometry. Molecular Oral Microbiology, 25(1), 38–49.* doi:10.1111/j.2041-1014.2009.00558.x

Ryzhov, V., & Fenselau, C. (2001). *Characterization of the Protein Subset Desorbed by MALDI from Whole Bacterial Cells. Analytical Chemistry, 73(4), 746–750.* doi:10.1021/ac0008791

San Miguel, V., Peinado, C., Catalina, F., & Abrusci, C. (2009). *Bioremediation of naphthalene in water by Sphingomonas paucimobilis using new biodegradable surfactants based on poly (ε-caprolactone)*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(2), 217–223. doi:10.1016/j.ibiod.2008.09.005

Sardi, A. E., Renaud, P. E., Morais, G. C., Martins, C. C., da Cunha Lana, P., Camus, L. (2017). *Effects of an in situ diesel oil spill on oxidative stress in the clam Anomalocardia flexuosa. Environmental Pollution, 230, 891–901*. doi:10.1016/j.envpol.2017.07.040

Sarkar, P., Roy, A., Pal, S., Mohapatra, B., Kazy, S. K., Maiti, M. K., & Sar, P. (2017). *Enrichment and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from petroleum refinery waste as potent bioaugmentation agent for in situ bioremediation. Bioresource Technology, 242, 15–27.* doi:10.1016/j.biortech.2017.05.010

Schneider, T., & Riedel, K. (2010). *Environmental proteomics: Analysis of structure and function of microbial communities. PROTEOMICS, 10(4), 785–798.* doi:10.1002/pmic.200900450

Schneiker, S., dos Santos, V. A. M., Bartels, D., Bekel, T., Brecht, M., Buhrmester, J., … Golyshin, P. N. (2006). *Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium Alcanivorax borkumensis. Nature Biotechnology, 24(8), 997–1004*. doi:10.1038/nbt1232

Schulze, W. X., Gleixner, G., Kaiser, K., Guggenberger, G., Mann, M., & Schulze, E.-D. (2005). *A proteomic fingerprint of dissolved organic carbon and of soil particles. Oecologia, 142(3), 335–343.* doi:10.1007/s00442-004-1698-9

Sharma, R., Singh, J., & Verma, N. (2018). *Production, characterization and environmental applications of biosurfactants from Bacillus amyloliquefaciens and Bacillus subtilis. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 16, 132–139.* doi:10.1016/j.bcab.2018.07.028

Shimazu, M., Mulchandani, A., & Chen, W. (2001). *Simultaneous degradation of organophosphorus pesticides and p-nitrophenol by a genetically engineered Moraxella sp. with surface-expressed organophosphorus hydrolase. Biotechnology and Bioengineering, 76(4), 318–324.* doi:10.1002/bit.10095

Silva, D. de S. P., Cavalcanti, D. de L., Melo, E. J. V. de, Santos, P. N. F. dos, Luz, E. L. P. da, Gusmão, N. B. de, Sousa, M. de F. V. de Q. (2015). *Bio-removal of diesel oil through a microbial consortium isolated from a polluted environment. International Biodeterioration & Biodegradation, 97, 85–89.* doi:10.1016/j.ibiod.2014.09.021

Simon, C., & Daniel, R. (2009). *Achievements and new knowledge unraveled by metagenomic approaches. Applied Microbiology and Biotechnology, 85(2), 265–276.* doi:10.1007/s00253-009-2233-z

Singh C. and Lin J. (2010). *Bioagumentation efficiency of diesel degradation by Bacillus pumilus JL and Acinatobacter calcoacetics LT in contaminated soils, African Journal of Biotechnology*, 9(41), 6881-6888.

Singh, H., Bhardwaj, N., Arya, S. K., & Khatri, M. (2020). *Environmental impacts of oil spills and their remediation by magnetic nanomaterials. Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management,14, 100305*. doi:10.1016/j.enmm.2020.100305

Smith, P. T. (1996). *Toxic effects of blooms of marine species of Oscillatoriales on farmed prawns (Penaeus monodon, Penaeus japonicus) and brine shrimp (Artemia salina). Toxicon, 34(8), 857–869.* doi:10.1016/0041-0101(96)00048-7

Soares-Filho, B., Rajao, R., Macedo, M., Carneiro, A., Costa, W., Coe, M., … Alencar, A. (2014). *Cracking Brazil's Forest Code. Science, 344(6182), 363–364.* doi:10.1126/science.1246663

Souza, M. M., Colla, T. S., Bücker, F., Ferrão, M. F., Huang, C. T., Andreazza, R., … Bento, F. M. (2016). *Biodegradation potential of Serratiamarcescens for diesel/biodiesel blends. International Biodeterioration & Biodegradation, 110, 141–146.* doi:10.1016/j.ibiod.2016.03.006

Sowani, H., Kulkarni, M., & Zinjarde, S. (2020). *Uptake and detoxification of diesel oil by a tropical soil Actinomycete Gordonia amicalis HS-11: Cellular responses and degradation perspectives*. *Environmental Pollution, 263, 114538.* doi:10.1016/j.envpol.2020.114538

Sowell, S. M., Wilhelm, L. J., Norbeck, A. D., Lipton, M. S., Nicora, C. D., Barofsky, D. F., … Giovanonni, S. J. (2009). *Transport functions dominate the SAR11 metaproteome at low-nutrient extremes in the Sargasso Sea. The ISME Journal, 3(1), 93–105.* doi:10.1038/ismej.2008.83

Studts, J. M., Mitchell, K. H., Pikus, J. D., McClay, K., Steffan, R. J., & Fox, B. G. (2000). *Optimized Expression and Purification of Toluene 4-Monooxygenase Hydroxylase. Protein Expression and Purification, 20(1), 58–65.* doi:10.1006/prep.2000.1281

Suarez, S., Ferroni, A., Lotz, A., Jolley, K. A., Guérin, P., Leto, J., … Armengaud, J. (2013). *Ribosomal proteins as biomarkers for bacterial identification by mass spectrometry in the clinical microbiology laboratory. Journal of Microbiological Methods, 94(3), 390–396.* doi:10.1016/j.mimet.2013.07.021

Suganthi, S. H., Murshid, S., Sriram, S., & Ramani, K. (2018). *Enhanced biodegradation of hydrocarbons in petroleum tank bottom oil sludge and characterization of biocatalysts and biosurfactants. Journal of Environmental Management, 220, 87–95.* doi:10.1016/j.jenvman.2018.04.120

Syahir Habib,S., Johari, W. L.W., Shukor, M. Y. A., Yasid, N. Y. (2017). *Screening of Hydrocarbon-degrading Bacterial Isolates Using the Redox Application of 2,6-DCPIP. BSTR*, v. 5, n. 2, 13-16

Tariq, A.L., S. Sudha and Reyaz, A.L. (2016). *Isolation and Screening of Bacillus Species from Sediments and Application in Bioremediation.Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 5(6): 916-924. doi:10.20546/ijcmas.2016.506.099

Teramoto, K., Sato, H., Sun, L., Torimura, M., & Tao, H. (2007). *A Simple Intact Protein Analysis by MALDI-MS for Characterization of Ribosomal Proteins of Two Genome-Sequenced Lactic Acid Bacteria and Verification of Their Amino Acid Sequences. Journal of Proteome Research, 6(10), 3899–3907.* doi:10.1021/pr070218l

Throne-Holst, M., Wentzel, A., Ellingsen, T. E., Kotlar, H.-K., & Zotchev, S. B. (2007). *Identification of Novel Genes Involved in Long-Chain n-Alkane Degradation by Acinetobacter sp. Strain DSM 17874. Applied and Environmental Microbiology, 73(10), 3327–3332.* doi:10.1128/aem.00064-07

Tiralerdpanich, P., Sonthiphand, P., Luepromchai, E., Pinyakong, O., & Pokethitiyook, P. (2018). *Potential microbial consortium involved in the biodegradation of diesel, hexadecane and phenanthrene in mangrove sediment explored by metagenomics analysis. Marine Pollution Bulletin, 133, 595–605.* doi:10.1016/j.marpolbul.2018.06.015

Titah, H. S., Pratikno, H., Moesriati, A., Imron, M. F., Putera, R. I., (2018). *Isolation and Screening of Diesel Degrading Bacteria from Ship Dismantling Facility at Tanjungjati, Madura, Indonesia. Journal of Engineering and Technological Sciences***,** v. 50, n. 1, p. 99. doi:10.5614/j.eng.technol.sci.2018.50.1.7

Tiwari, J., Gandhi, D., Sivanesan, S., Naoghare, P., & Bafana, A. (2020). *Remediation of different nitroaromatic pollutants by a promising agent of Cupriavidus sp. strain a3. Ecotoxicology and Environmental Safety, 205, 111138.* doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111138

Tiwari, J., Naoghare, P., Sivanesan, S., & Bafana, A. (2017). *Biodegradation and detoxification of chloronitroaromatic pollutant by Cupriavidus. Bioresource Technology, 223, 184–191.* doi:10.1016/j.biortech.2016.10.043

Toyoda, A., Iio, W., Mitsumori, M., & Minato, H. (2009). *Isolation and Identification of Cellulose-Binding Proteins from Sheep Rumen Contents. Applied and Environmental Microbiology, 75(6), 1667–1673.* doi:10.1128/aem.01838-08

Tran, T., Yazdanparast, A., & Suess, E. A. (2014). *Effect of Oil Spill on Birds: A Graphical Assay of the Deepwater Horizon Oil Spill's Impact on Birds. Computational Statistics, 29(1-2), 133–140*. doi:10.1007/s00180-013-0472-z

Tresse, O., Errampalli, D., Kostrzynska, M., Leung, K. T., Lee, H., Trevors, J. T., & Elsas, J. D. (1998). *Green fluorescent protein as a visual marker in ap-nitrophenol degradingMoraxellasp. FEMS Microbiology Letters, 164(1), 187–193.* doi:10.1111/j.1574-6968.1998.tb13084.x

Turner, R. E., Overton, E. B., Meyer, B. M., Miles, M. S., & Hooper-Bui, L. (2014). *Changes in the concentration and relative abundance of alkanes and PAHs from the Deepwater Horizon oiling of coastal marshes. Marine Pollution Bulletin, 86(1-2), 291–297.* doi:10.1016/j.marpolbul.2014.07.003

Val, A. L. (1997). *Efeitos do petróleo sobre a respiração de peixes da Amazônia*. In: MARTOS, H. L.; MAIA, N. B. (Eds). Indicadores Ambientais. Sorocaba, São Paulo: Pontifícia Universidade Católica, p.109-119.

Val, A. L., Fearnside, P. M., & Almeida-Val, V. M. F. (2016). *Environmental disturbances and fishes in the Amazon. Journal of Fish Biology, 89(1), 192–193.* doi:10.1111/jfb.12896

Van Schie, P. M., & Young, L. Y. *(2000). Biodegradation of Phenol: Mechanisms and Applications. Bioremediation Journal, 4(1), 1–18. doi:10.1080/10588330008951128*

Varjani S.J., Rana D.P., Bateja S. and Upasani V.N. (2013). *Isolation and screening for Hydrocarbon Utilizing Bacteria (HUB) from petroleum Samples, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2, 48-60.

Varjani, S. J. (2017). *Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. Bioresource Technology, 223, 277–286.* doi:10.1016/j.biortech.2016.10.037

Varjani, S. J., & Upasani, V. N. (2017). *A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. International Biodeterioration & Biodegradation, 120, 71–83.* doi:10.1016/j.ibiod.2017.02.006

Verberkmoes, N. C., Russell, A. L., Shah, M., Godzik, A., Rosenquist, M., Halfvarson, J., … Jansson, J. K. (2008). *Shotgun metaproteomics of the human distal gut microbiota. The ISME Journal, 3(2), 179–189.* doi:10.1038/ismej.2008.108

Viggor, S., Juhanson, J., Jõesaar, M., Mitt, M., Truu, J., Vedler, E., & Heinaru, A. (2013). *Dynamic changes in the structure of microbial communities in Baltic Sea coastal seawater microcosms modified by crude oil, shale oil or diesel fuel. Microbiological Research, 168(7), 415–427.* doi:10.1016/j.micres.2013.02.006

Waigi, M. G., Kang, F., Goikavi, C., Ling, W., & Gao, Y. (2015). *Phenanthrene biodegradation by sphingomonads and its application in the contaminated soils and sediments: A review. International Biodeterioration & Biodegradation, 104, 333–349*. doi:10.1016/j.ibiod.2015.06.008

Wang, S.-Y., Kuo, Y.-C., Hong, A., Chang, Y.-M., & Kao, C.-M. (2016). *Bioremediation of diesel and lubricant oil-contaminated soils using enhanced landfarming system. Chemosphere, 164, 558–567.* doi:10.1016/j.chemosphere.2016.08.128

Wang, X., Wang, X., Liu, M., Bu, Y., Zhang, J., Chen, J., & Zhao, J. (2015). *Adsorption–synergic biodegradation of diesel oil in synthetic seawater by acclimated strains immobilized on multifunctional materials. Marine Pollution Bulletin, 92(1-2), 195–200.* doi:10.1016/j.marpolbul.2014.12.033

Wang, Y.-B., & Han, J.-Z. (2007). *The role of probiotic cell wall hydrophobicity in bioremediation of aquaculture. Aquaculture, 269(1-4), 349–354.* doi:10.1016/j.aquaculture.2007.04.010

Wentzel, A., Ellingsen, T. E., Kotlar, H.-K., Zotchev, S. B., & Throne-Holst, M. (2007). *Bacterial metabolism of long-chain n-alkanes. Applied Microbiology and Biotechnology, 76(6), 1209–1221.* doi:10.1007/s00253-007-1119-1

Wilmes, P., & Bond, P. L. (2004). *The application of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and downstream analyses to a mixed community of prokaryotic microorganisms. Environmental Microbiology, 6(9), 911–920.* doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00687.x

Xia, M., Fu, D., Chakraborty, R., Singh, R. P., & Terry, N. (2019). *Enhanced Crude Oil Depletion by Constructed Bacterial Consortium Comprising Bioemulsifier Producer and Petroleum Hydrocarbon Degraders. Bioresource Technology*, 282, 456–463. doi:10.1016/j.biortech.2019.01.131

Yaqoob, H., Teoh, Y. H., Jamil, M. A., M. Gulzar, M. (2021). *Potential of tire pyrolysis oil as an alternate fuel for diesel engines: A review. Journal of the Energy Institute, 863*. doi: 10.1016/j.joei.2021.03.002.

Yi, T., Shan, Y., Huang, B., Tang, T., Wei, W., & Quinn, N. W. T. (2020). *An efficient Chlorella sp.-Cupriavidus necator microcosm for phenol degradation and its cooperation mechanism. Science of The Total Environment, 140775.* doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140775

Youssef M., El-Taweel G.E. e El-Naggar A.Y. (2010). *Hydrocarbon degrading bacteria as indicator of petroleum pollution in Ismailia canal, Egypt, World Applied Sciences Journal*, 8(10), 1226-1233.

Yuan, X., Zhang, X., Chen, X., Kong, D., Liu, X., & Shen, S. (2018). *Synergistic degradation of crude oil by indigenous bacterial consortium and exogenous fungus Scedosporium boydii. Bioresource Technology, 264, 190–197*. doi:10.1016/j.biortech.2018.05.072

Zadjelovic, V., Gibson, M. I., Dorador, C., & Christie-Oleza, J. A. (2020). *Genome of Alcanivorax sp. 24: A hydrocarbon degrading bacterium isolated from marine plastic debris. Marine Genomics, 49, 100686*. doi:10.1016/j.margen.2019.05.00

Zhang, Q., Xie, X., Liu, Y., Zheng, X., Wang, Y., Cong, J., Yu, C., Liu, N., Sand, W., Liu, J. (2020). *Co-metabolic degradation of refractory dye: A metagenomic and metaproteomic study. Environmental Pollution, 113456.* doi:10.1016/j.envpol.2019.113456

Zhang, X., Kong, D., Liu, X. , Xie, H., Lou, X., Zeng, C. (2021). *Combined microbial degradation of crude oil under alkaline conditions by Acinetobacter baumannii and Talaromyces sp. Chemosphere*, 273, 129666. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129666

Zhao, F., Zhou, J.-D., Ma, F., Shi, R.-J., Han, S.-Q., Zhang, J., & Zhang, Y. (2016). *Simultaneous inhibition of sulfate-reducing bacteria, removal of H2S and production of rhamnolipid by recombinant Pseudomonas stutzeri Rhl: Applications for microbial enhanced oil recovery. Bioresource Technology, 207, 24–30*. doi:10.1016/j.biortech.2016.01.126

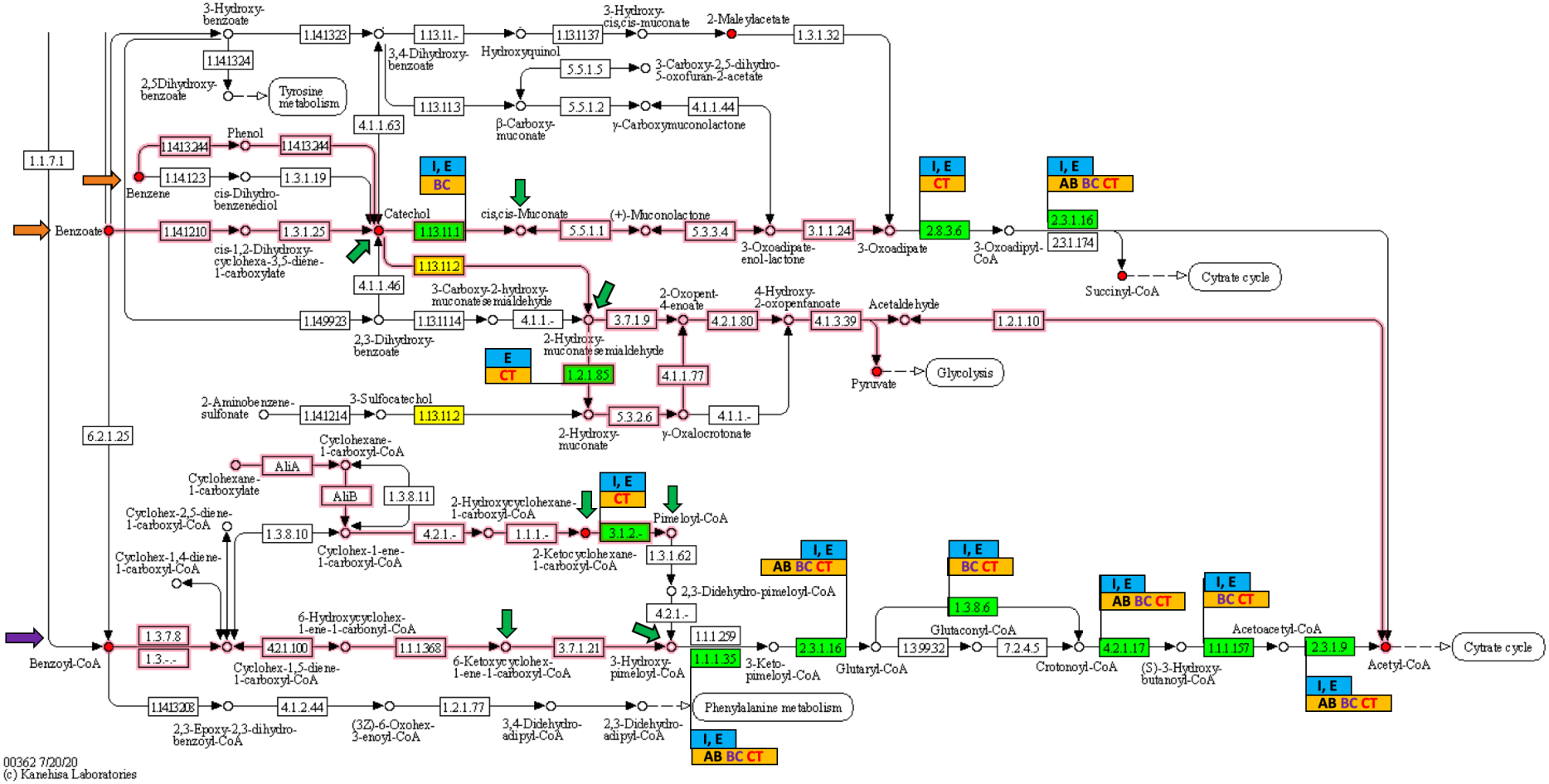
Zhou, J.-F., Gao, P.-K., Dai, X.-H., Cui, X.-Y., Tian, H.-M., Xie, J.-J., Ma, T. (2018). *Heavy hydrocarbon degradation of crude oil by a novel thermophilic Geobacillus stearothermophilus strain A-2. International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 224–230. doi:10.1016/j.ibiod.2016.09.031

Zhou, Z., Li, X., Chen, L., Li, B., Wang, C., Guo, J., Shi, P., Yang, L., Liu, B., Song, B. (2019). *Effects of diesel oil spill on macrobenthic assemblages at the intertidal zone: A mesocosm experiment in situ. Marine Environmental Research*, 104823. doi:10.1016/j.marenvres.2019.104823

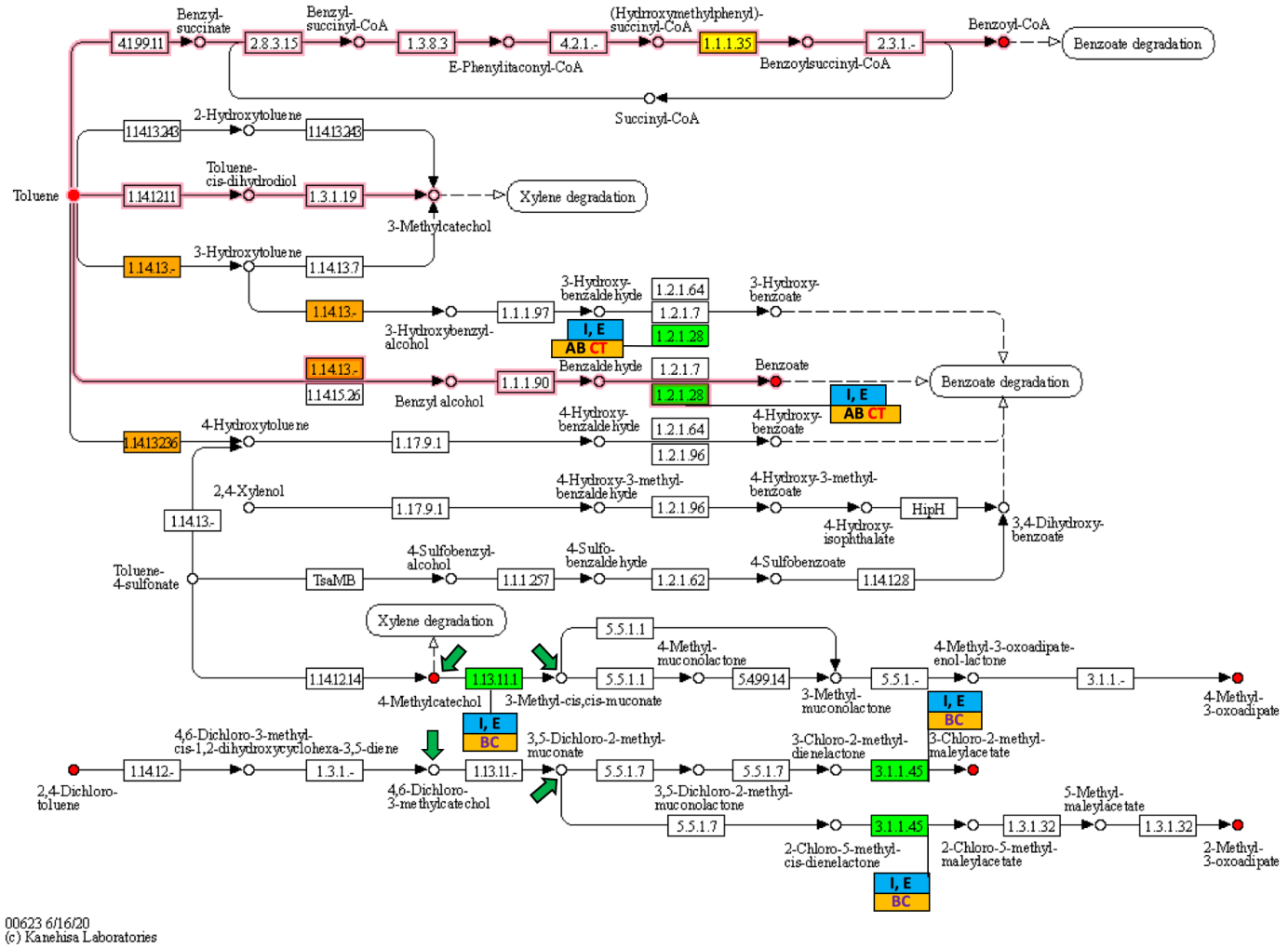
Ziabari, S.-S. H., Khezri, S.-M., & Kalantary, R. R. (2016). *Ozonation optimization and modeling for treating diesel-contaminated water. Marine Pollution Bulletin, 104(1-2), 240–245.* doi:10.1016/j.marpolbul.2016.01.017

APÊNDICE 01

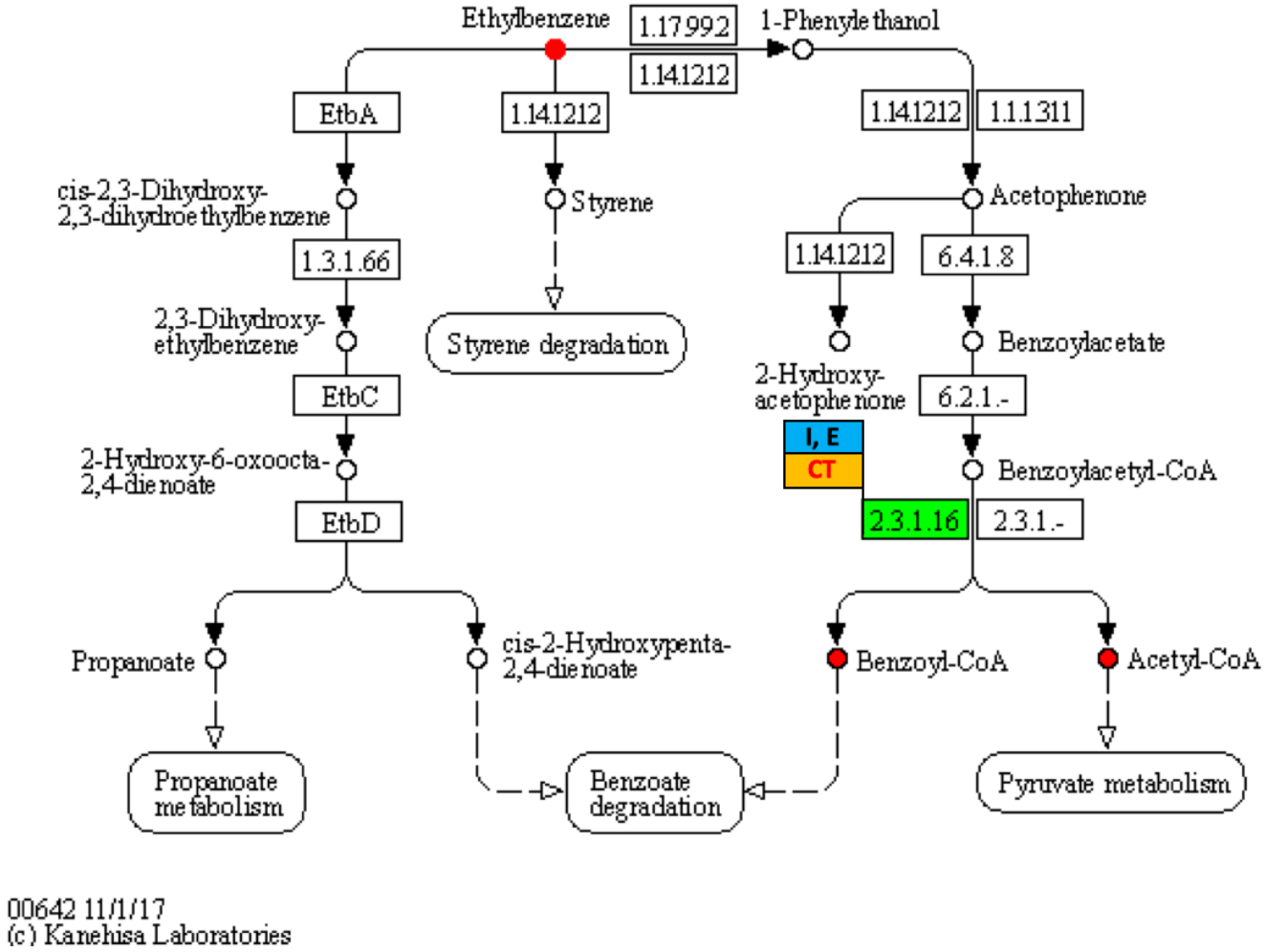
Esquema 01: Via de degradação do benzoato (map00362). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas detectadas no consórcio A3, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.



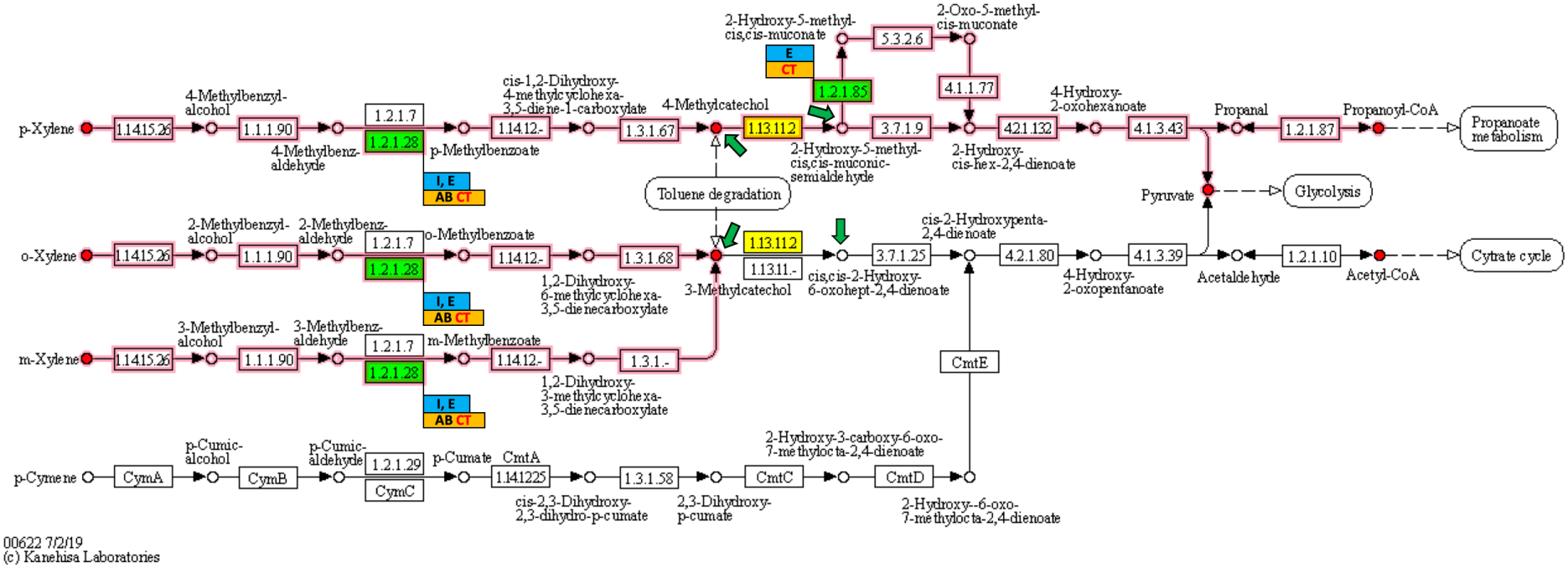
Esquema 02: Via de degradação do tolueno (map00623). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.



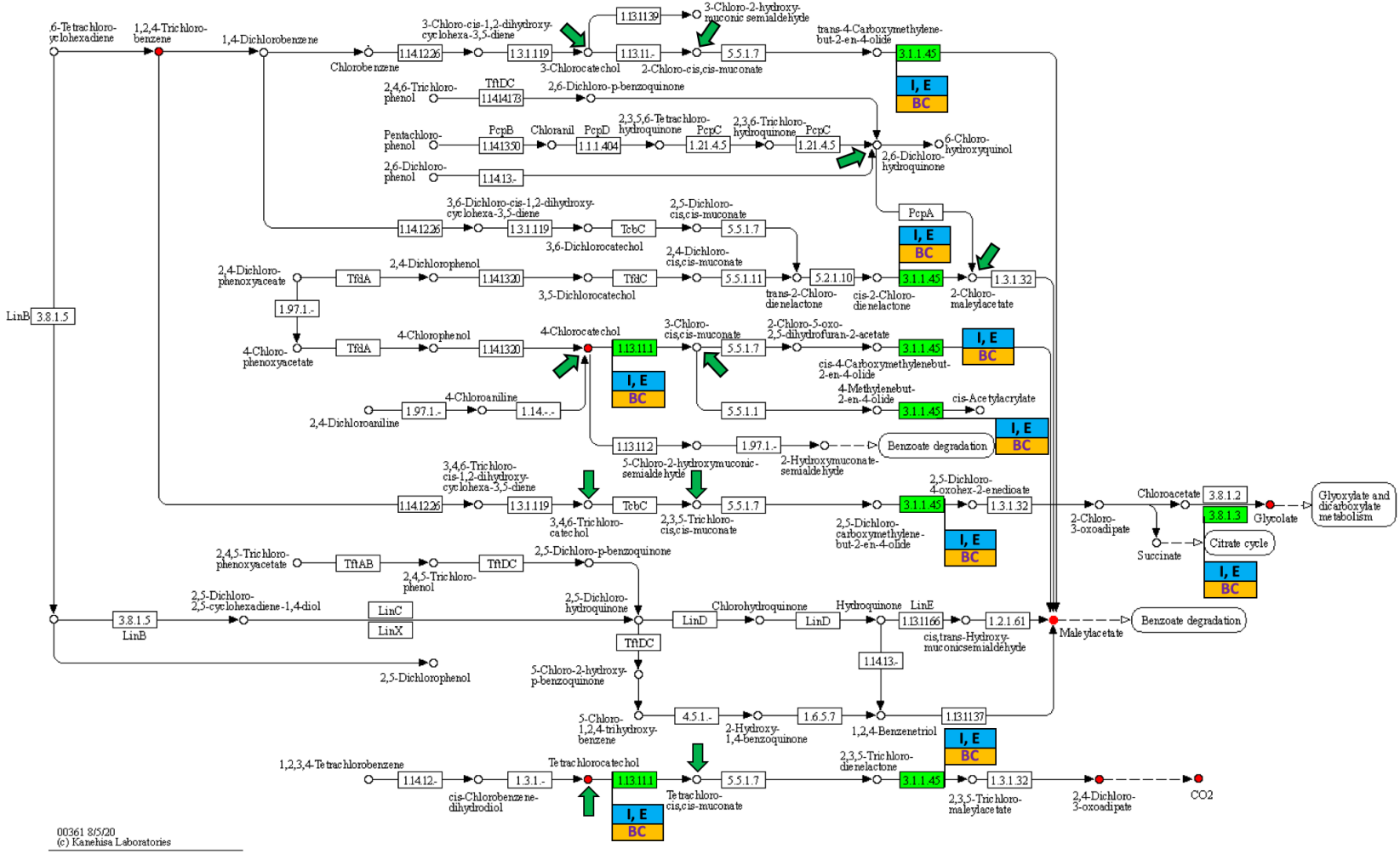
Esquema 03: Via de degradação do etilbenzeno (map00642). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.



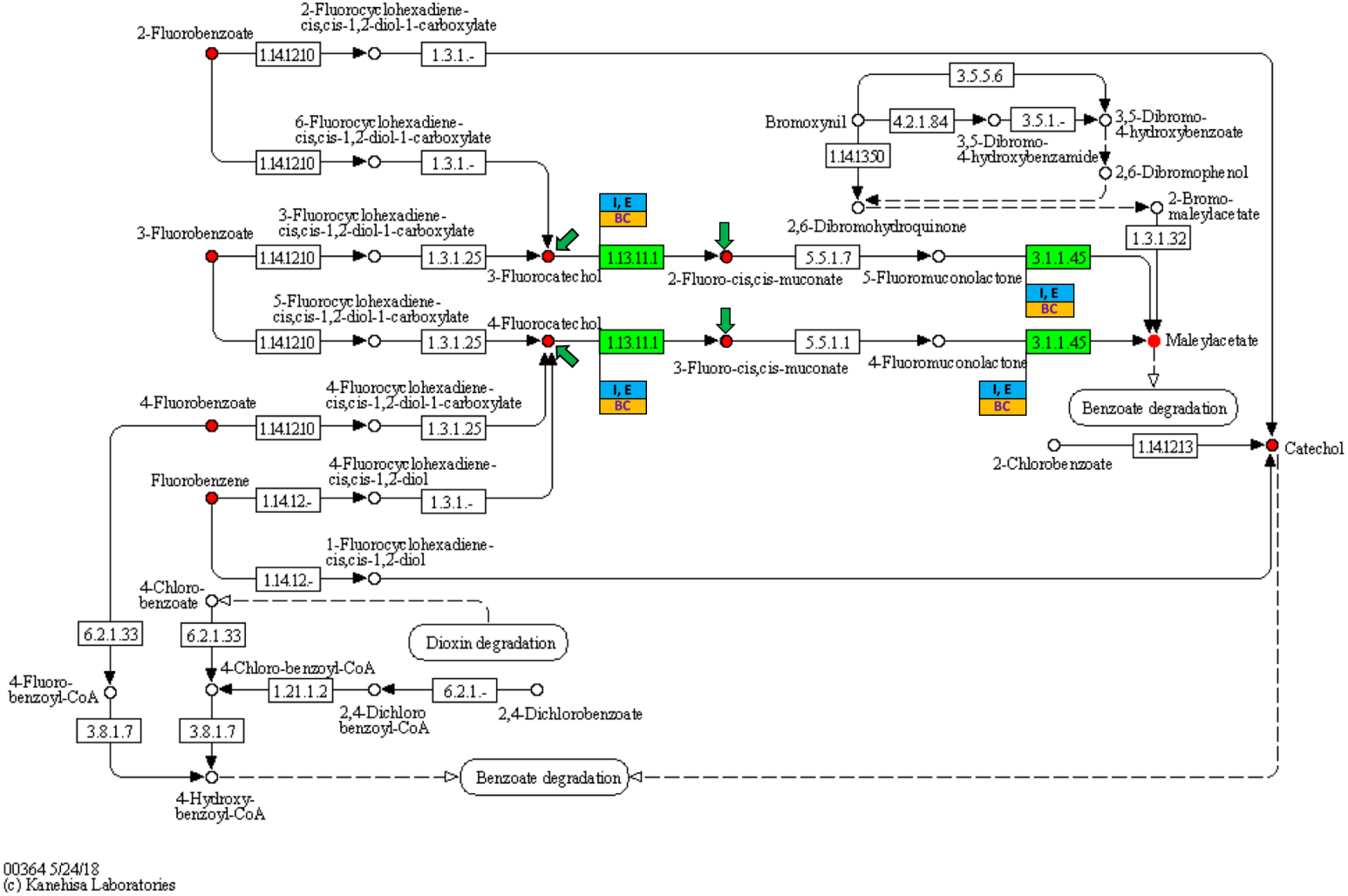
Esquema 04: Via de degradação de *p*-, *o*-, e *m*-xileno (map00622). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.



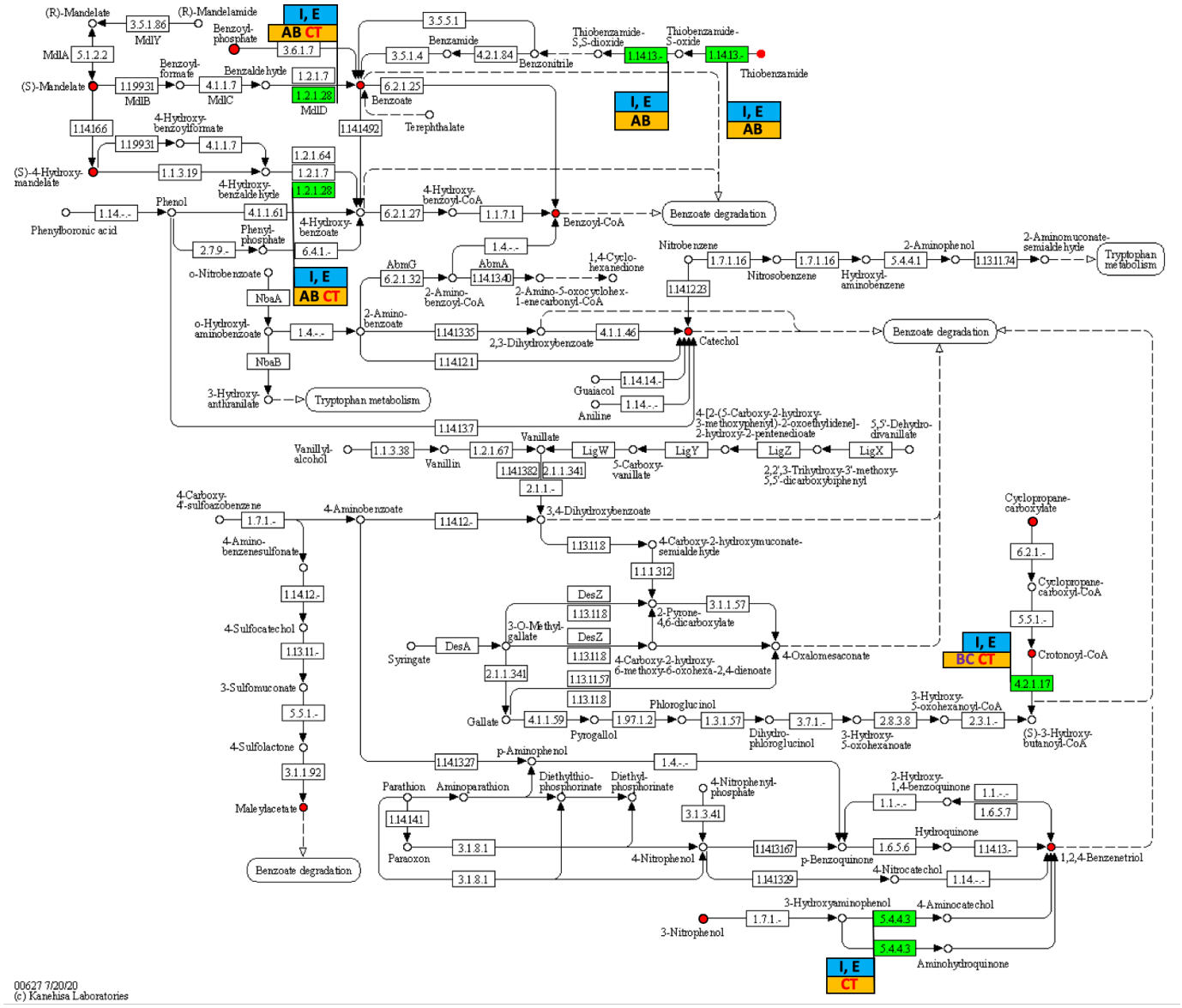
Esquema 05: Via de degradação de clorociclohexano e clorobenzeno (map00361). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; BC – *B. cenocepacia*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.



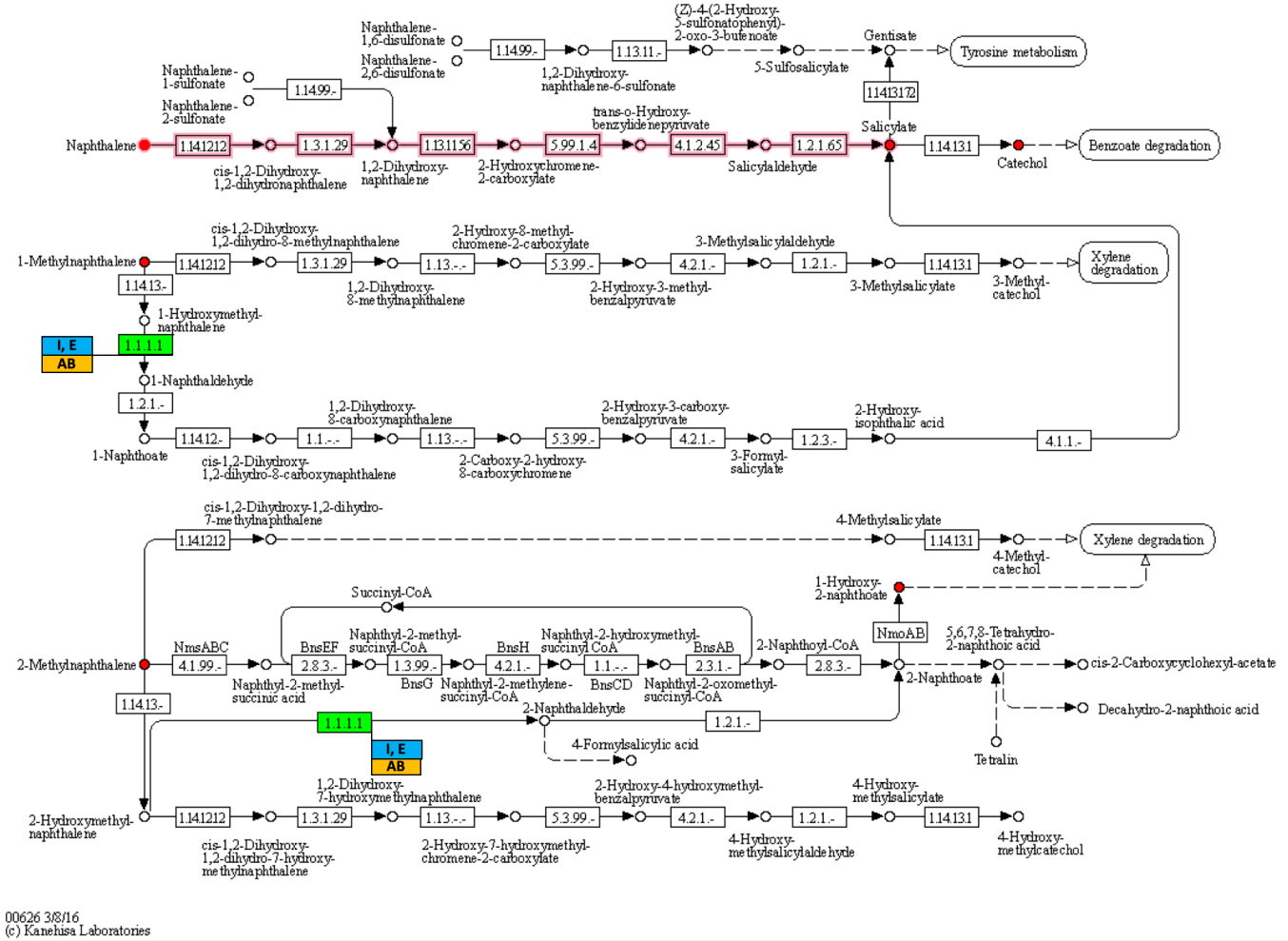
Esquema 06: Via de degradação de fluorobenzoato (map00364). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; BC – *B. cenocepacia*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via. Espaço entre duas setas verdes indicam uma reação de quebra de um anel aromático.



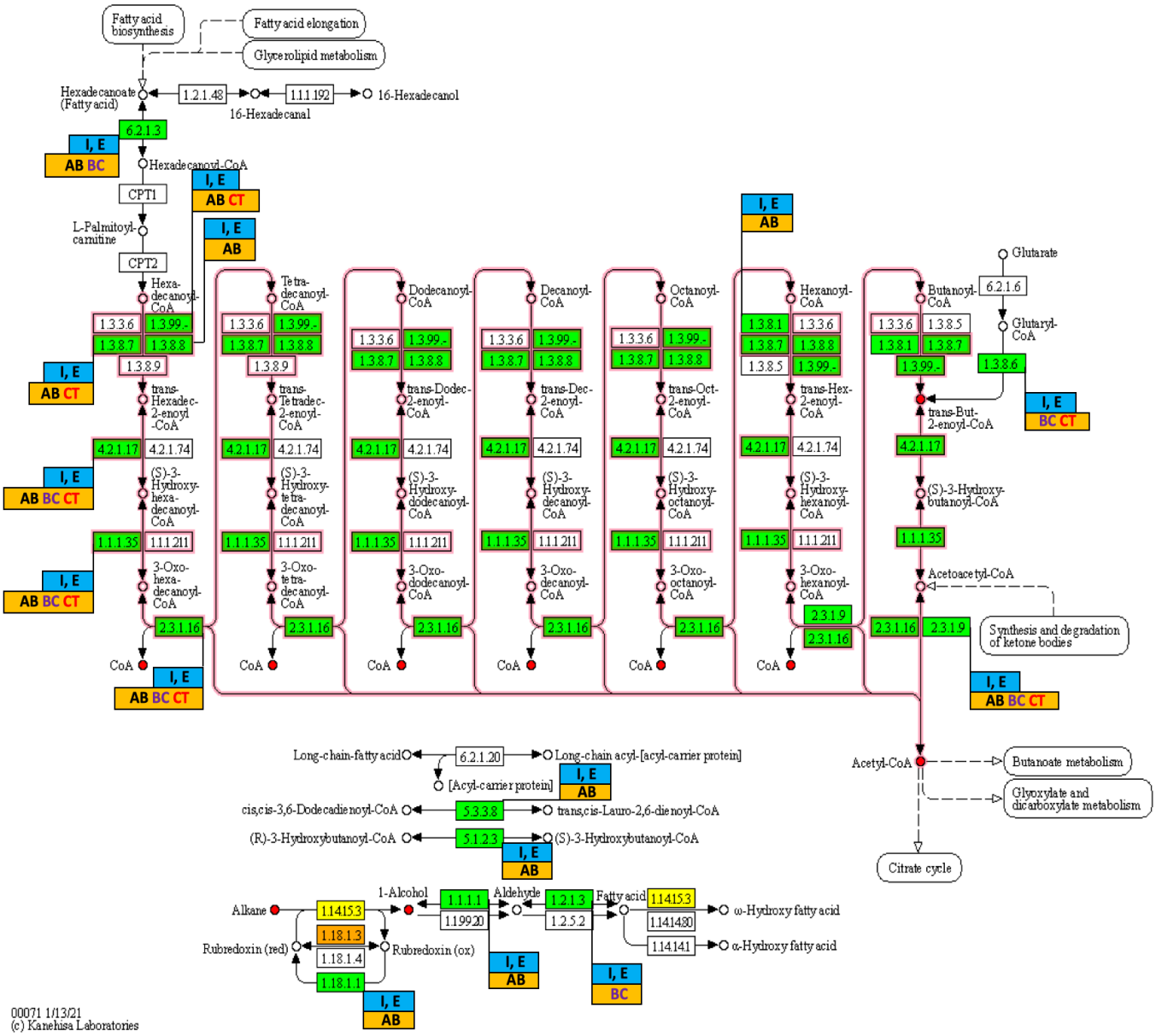
Esquema 07: Via de degradação de aminobenzoato (map00627). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.



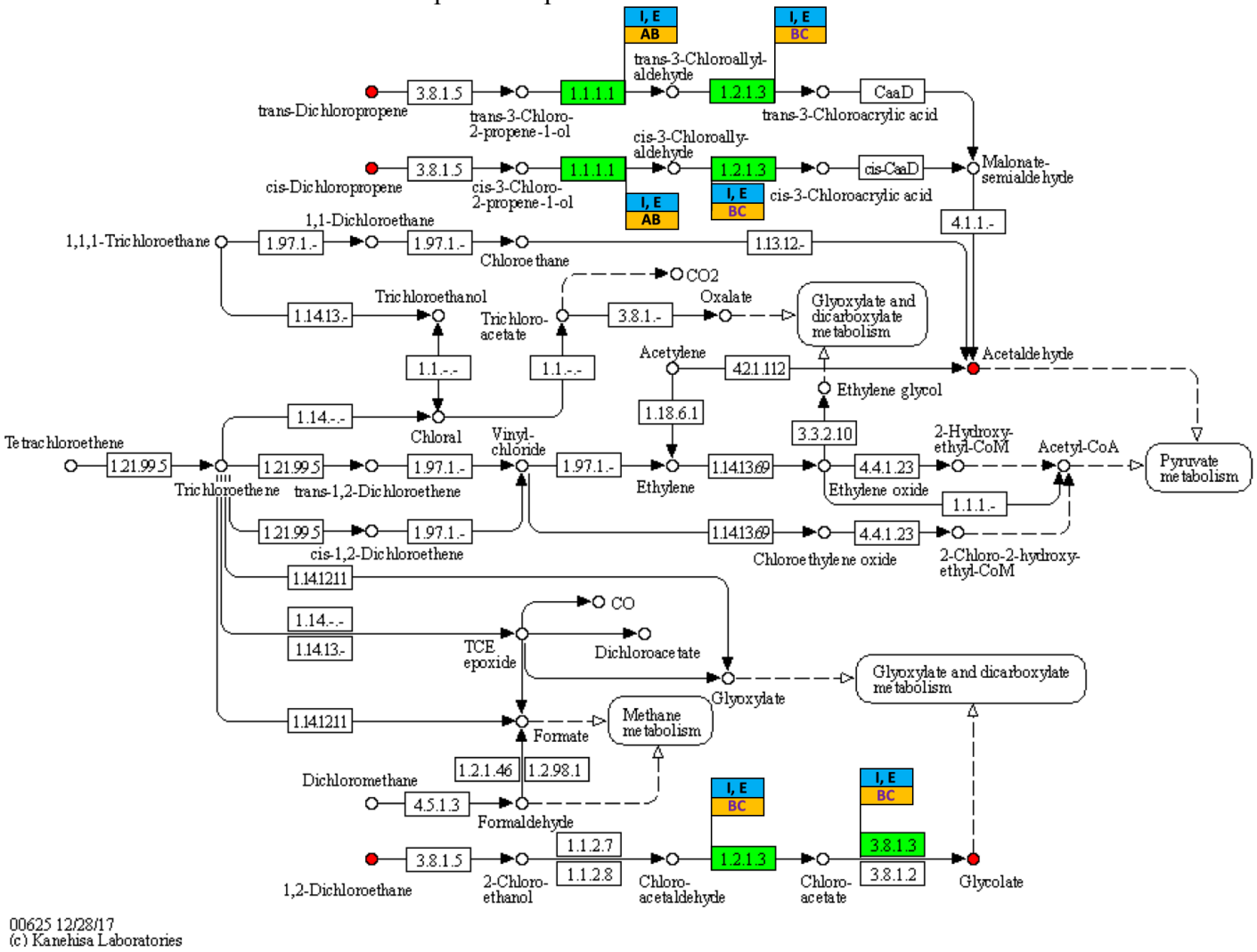
Esquema 08: Via de degradação de naftaleno (map00627). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Linhas de contorno vermelho são as principais rotas de quebra do xenobiótico. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.



Esquema 09: Via de degradação ácidos graxos (map00071). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia*; CT – *C. taiwanensis*. Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas, e amarela ou laranja, enzimas importantes não encontradas. Linhas de contorno vermelho representa a via de *β*-oxidação dos ácidos graxos. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.



Esquema 10: Via de degradação de Degradação de cloroalcano e cloroalceno (map00625). Modificada a partir do *KEGG*. I – Amostra intracelular; E – Amostra extracelular; AB – *A. baumannii*; BC – *B. cenocepacia.* Caixas de *EC number* na cor verde indicam enzimas encontradas. Pontos vermelhos são compostos importantes na via.



00625 12/28/17
(c) Kanehisa Laboratories

#	Proteínas Identificadas (890)	Esp	Código de *Uniprot*	EC Number	PM (kDa)	Vias metabólicas	PB	CC	FM	Am.
1	1,4-dihydroxy-2-naphthoyl-CoA synthase	*CT*	Q0K0J4	3.1.2.-	29	*Benzoate degradatio* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Deg. aromatic compo*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
2	1-(5-phosphoribosyl)-5-[(5-phosphoribosylamino)methylideneamino] imidazole-4-carboxamide	*BC* *AB*	Q845U8 Q6F7A5	5.3.1.16	27 26	*Histidine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
3	1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase	*AB*	Q6FCG9	1.1.1.267	43	*Terpenoid backbone* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Bios. Metab. secundários	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
4	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase	*BC*	A0A0H3KK09	2.2.1.7	68	-	Bios. Metab. secundários	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
5	10 chaperonin	*BC*	A0A0H3KHB2	-	10	-	Bios./Metab. Proteínas	Membrana externa da célula	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
6	16S rRNA (cytosine(967)-C(5))-methyltransferase	*AB*	Q6F6P8	2.1.1.176	49	-	Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
7	2-dehydro-3-deoxyphosphogluconate aldolase	*BC*	A0A0H3KBX2	4.1.2.14	22	*Pentose phosphate p* *Glyoxylate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
8	2-dehydro-3-deoxyphosphooctonate aldolase	*BC* *AB*	A9AGW1 Q6FAT8	2.5.1.55	31 32	*Lipopolysaccharide b* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
9	2-deoxy-D-gluconate 3-dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KER1	1.1.1.125	28	-	Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
10	2-Hydroxymuconic semialdehyde dehydrogenase	*CT*	Q0K3T0	1.2.1.85	53	*Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *Xylene degradation* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Deg. aromatic compo*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
11	2-isopropylmalate synthase	*CT* *BC* *AB*	Q0KCT8 A9AJN4 Q6FEQ2	2.3.3.13	56 56 63	*Val., leuc. and isol. bi* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
12	2-methylisocitrate Liase	*AB*	Q6F8W3	4.1.3.30	32	*Propanoate metabol* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Mitocondria	Liase	*In./Ex.*
13	2-nitropropane dioxygenase	*BC*	A0A0H3KBR8	1.13.12.16	34	*Nitrogen metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
14	2-octaprenylphenol hydroxylase of ubiquinone biosynthetic	*AB*	Q3V7H2	-	62		Indefinido	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
15	2-oxoglutarate decarboxylase, component of the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex	*AB*	Q6F8L1	1.2.4.2	106	*Citrate cycle (TCA cyc* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
16	2-oxoglutarate dehydrogenase E1 component	*CT* *BC*	Q59106 A0A0H3KEJ0	1.2.4.2	106 107	*Citrate cycle (TCA cyc* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
17	2,3-bisphosphoglycerate-independent	*AB*	Q6FFD5	5.4.2.12	57	*Glycolysis / Gluconeo* *Glycine, serine and th* *Methane metabolism* *Metabolic pathways*	Glicolise / Gliconeogênes	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*

	independent phosphoglycerate mutase	*AB*	Q0H1D5	5.4.2.12	37	*Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Gliconeogenes e	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
18	2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-succinyltransferase	*CT* *BC* *AB*	Q0KA05 A9AHT0 Q6F9A5	2.3.1.117	30 30 30	*Lysine biosynthesis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
19	2,4-dienoyl-CoA reductase	*AB*	Q6FBR3	1.3.1.34	74		Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
20	2,4-dienoyl-CoA reductase [NADPH] (2,4-dienoyl coenzyme A reductase)	*AB*	Q6FD25	1.3.1.34	75		Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
21	23S rRNA (guanosine-2'-O-)-methyltransferase	*BC* *AB*	A0A0H3KJD0 Q6FF50	2.1.1.185	26 27		Metabolismo de RNA	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
22	3-dehydroquinate dehydratase	*BC*	A0A0H3KBT4	4.2.1.10	16	*Phenylalanine, tyrosi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
23	3-deoxy-D-manno-octulosonate 8-phosphate phosphatase	*AB*	Q6FC69	3.1.3.45	20	*Lipopolysaccharide b* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeo	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
24	3-deoxy-manno-octulosonate cytidylyltransferase	*AB*	Q6F9X2	2.7.7.38	28	*Lipopolysaccharide b* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
25	3-hydroxyacyl-[acyl-carrier-protein] dehydratase FabZ	*BC* *AB*	A9AIM5 Q6FCG4	4.2.1.59	17 17	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
26	3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	*CT*	Q0KCM8	1.1.1.157	53	*Phenylalanine metab* *Benzoate degradatio* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
27	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KZP0	1.1.1.35	26		Degradação de Ácidos graxos e	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
28	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KM46	1.1.1.35	88	*Fatty acid degradatio* *Benzoate degradatio* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
29	3-hydroxybutyrate dehydrogenase	*BC* *AB*	A0A0H3KJ53 Q6F9I7	1.1.1.30	27 27	*Synthesis/deg. ketone* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
30	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KDT9	1.1.1.157	33	*Phenylalanine metab* *Benzoate degradatio* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
31	3-hydroxybutyryl-CoA epimerase	*BC*	A0A0H3KFK5	1.1.1.35	75	*Fatty acid degradatio* *Benzoate degradatio* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
32	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KN85	1.1.1.31	30	*Val., leuc. and isol. de* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*

33	3-isopropylmalate dehydratase large subunit	*CT* *BC* *AB*	Q0K8G8 A0A0H3KQ48 Q6FEW0	4.2.1.33	51 51 52	*Val., leuc. and isol. bi* *C5-Branched dibasic* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
34	3-isopropylmalate dehydratase small subunit	*AB*	Q6FEV8	4.2.1.33	24	*Val., leuc. and isol. bi* *C5-Branched dibasic* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
35	3-isopropylmalate dehydrogenase	*CT* *BC* *AB*	Q0K8H0 Q845W3 Q6FEV6	1.1.1.85	38 38 39	*Val., leuc. and isol. bi* *C5-Branched dibasic* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
36	3-ketoacyl-CoA thiolase	*AB*	Q6FF69	2.3.1.16	41	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *Geraniol degradation* *Benzoate degradatio* *alpha-Linolenic acid* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
37	3-oxoacid CoA-transferase subunit A	*BC*	A0A0H3KEG4	2.8.3.5	25	*Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
38	3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase	*BC*	A0A0H3KQH0	1.1.1.100	27	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
39	3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase	*BC*	A0A0H3KGT8	1.1.1.100	27	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
40	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase	*CT* *BC* *AB*	Q0K8M1 A0A0H3KI56 Q6FDT8	1.1.1.100	26 26 26	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
41	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2	*BC*	A0A0H3KDP0	2.3.1.179	43	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
42	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 3	*BC*	A0A0H3KDH9	2.3.1.180	35	*Fatty acid biosynthes* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
43	3-Oxoadipate CoA-transferase subunit A	*CT*	Q0K4S5	2.8.3.6	24	*Benzoate degradatio* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Degradação de Ácidos graxos e	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
44	3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase	*AB*	Q6FA95	1.3.1.43 1.3.1.12 2.5.1.19	80	*Phenylalanine, tyrosi* *Novobiocin biosynth* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase ; Transferase	*In./Ex.*
45	3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate synthase	*AB*	Q6F6V4	4.1.99.12 3.5.4.25	41	*Riboflavin metabolisr* *Folate biosynthesis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Bios. Metab. secundários	Mitocondria	Hidrolase; Liase	*In./Ex.*
		CT	Q0KDH6		62		Reg./Proces		Ligação ao	

46	30S ribosomal protein S1	*BC*	A0A0H3KDC2	-	62		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		AB	Q6F9Y7		61					
47	30S ribosomal protein S10	*CT*	Q0K613	-	12		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ2		12					
		AB	Q6F7R1		12					
48	30S ribosomal protein S11	*CT*	Q0K643	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADL7		14					
		AB	Q6F7T5		14					
49	30S ribosomal protein S12	*CT*	Q0K609	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADI8		14					
		AB	Q6FDS8		14					
50	30S ribosomal protein S13	*CT*	Q0K642	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADL6		14					
		AB	Q6F7T4		13					
51	30S ribosomal protein S14	*CT*	Q0K632	-	12		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADK6		12					
		AB	Q6F7S5		11					
52	30S ribosomal protein S15	*BC*	A9AJN9		10		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6FF13		10					
53	30S ribosomal protein S16	*CT*	Q0KD81	-	9		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADT1		9					
		AB	Q6F7H9		9					
54	30S ribosomal protein S18	*CT*	Q0K9E7	-	11		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9AJW3		11					
		AB	Q6F9Q9		9					
55	30S ribosomal protein S19	*CT*	Q0K623	-	10		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ7		10					
		AB	Q6F7R6		10					
56	30S ribosomal protein S2	*CT*	Q0KA16	-	27		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFU1		27					
		AB	Q6FA53		28					
57	30S ribosomal protein S21	*BC*	A0A0H3KKM1	-	9		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
58	30S ribosomal protein S21	*BC*	A0A0H3KII7	-	8		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		AB	Q6FCL0		8					
59	30S ribosomal protein S3	*CT*	Q0K625	-	30		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ9		30					
		AB	Q6F7R8		28					
60	30S ribosomal protein S4	*CT*	Q0K644	-	23		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADL8		23					
		AB	Q6F7T6		23					
61	30S ribosomal protein S5	*CT*	Q0K636	-	18		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADL0		18					
		AB	Q6F7S9		17					
62	30S ribosomal protein S6	*CT*	Q0K9E5	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9AJW1		14					
		AB	Q6F9R0		15					
63	30S ribosomal protein S7	*CT*	Q0K610	-	18		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
64	30S ribosomal protein S7	*BC*	A9ADI9		18		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		AB	Q6FDS7		18					
65	30S ribosomal protein S8	*BC*	A9ADK7		14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		AB	Q6F7S6		14					
66	30S ribosomal protein S9	*CT*	Q0KED8	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9AH80		14					
		AB	Q6F897		14					
67	4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase (flavodoxin)	*BC*	A0A0H3KJV8	1.17.7.3	46	*Terpenoid backbone*	Bios. Metab. secundários	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6FEM3	1.17.7.1	41	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
68	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate reductase	*AB*	Q6F6R2	1.17.1.8	29	*Monobactam biosyn*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Lysine biosynthesis				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				

	reductase					*Mic.metab. in diverse*				
						Biosynthesis of amin				
69	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate synthase	*BC*	A0A0H3KG09	4.3.3.7	32	*Monobactam biosyn*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6F6U2		35	*Lysine biosynthesis*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Biosynthesis of amin				
70	4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	*CT*	Q0K2A0	1.13.11.27	40	*Ubiquinone and othe*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Tyrosine metabolism				
						Phenylalanine metab				
						Metabolic pathways				
71	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate-homocysteine methyltransferase	*AB*	Q6F6Z8	2.1.1.14	39	*Cysteine and methior*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
						Selenocompound met				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Biosynthesis of amin				
72	50S ribosomal protein L1	*CT*	Q0K603	-	24		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADI2		24					
		AB	Q6FF93		24					
73	50S ribosomal protein L10	*CT*	Q0K604	-	18		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADI3		18					
		AB	Q6FF92		18					
74	50S ribosomal protein L11	*AB*	Q6FF94	-	15		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
75	50S ribosomal protein L13	*CT*	Q0KED9	-	16		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KCA6		16					
		AB	Q6F898		16					
76	50S ribosomal protein L14	*CT*	Q0K629	-	13		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADK3		13					
		AB	Q6F7S2		13					
77	50S ribosomal protein L15	*CT*	Q0K638	-	15		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADL2		15					
		AB	Q6F7T1		15					
78	50S ribosomal protein L16	*CT*	Q0K626	-	16		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		BC	A9ADK0		16					
79	50S ribosomal protein L17	*CT*	Q0K646	-	15		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADM0		15					
		AB	Q6F7T8		14					
80	50S ribosomal protein L18	*BC*	A9ADK9	-	13		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F7S8		12					
81	50S ribosomal protein L19	*CT*	Q0KD78	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADS8		15					
		AB	Q6F7I2		14					
82	50S ribosomal protein L2	*CT*	Q0K622	-	30		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ6		30					
		AB	Q6F7R5		30					
83	50S ribosomal protein L20	*BC*	A9ABF6	-	14		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F868		13					
84	50S ribosomal protein L21	*CT*	Q0K6P4	-	11		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F8G1		11					
85	50S ribosomal protein L22	*CT*	Q0K624	-	12		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F7R7		12					
86	50S ribosomal protein L23	*CT*	Q0K621	-	12		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ5		12					
87	50S ribosomal protein L24	*BC*	A9ADK4		11		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F7S3		11					
88	50S ribosomal protein L25	*CT*	Q0KEP9	-	22		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		BC	A9AEY7		22					
89	50S ribosomal protein L27	*BC*	A9AI61		9		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F8G2		9					
90	50S ribosomal protein L28	*CT*	Q0K7B2	-	9		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9AHD5		9					
		AB	Q6FES9		9					
91	50S ribosomal protein L3	*CT*	Q0K619	-	23		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ3		23					

		AB	Q6F7R2		22		da Tradução		Rebossomos	
92	50S ribosomal protein L3 glutamine methyltransferase	*AB*	Q6FAR1		38		Recombinação e Reparo de DNA	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
93	50S ribosomal protein L30	*CT*	Q0K637	-	7		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADL1		7					
		AB	Q6F7T0		7					
94	50S ribosomal protein L31 type B	*CT*	Q0K929	-	10		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		BC	A9AG80		10					
95	50S ribosomal protein L33	*CT*	Q0K7B1	-	6		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		BC	A9AHD4		6					
96	50S ribosomal protein L35	*BC*	A0A0H3KE59		7		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F867		7					
97	50S ribosomal protein L4	*CT*	Q0K620	-	23		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADJ4		23					
		AB	Q6F7R3		22					
98	50S ribosomal protein L5	*CT*	Q0K631	-	20		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADK5		20					
		AB	Q6F7S4		20					
99	50S ribosomal protein L6	*CT*	Q0K634	-	19		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADK8		19					
		AB	Q6F7S7		19					
100	50S ribosomal protein L7/L12	*CT*	Q0K605	-	13		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de Rebossomos	*In./Ex.*
		BC	A9ADI4		13					
		AB	Q6FF91		13					
101	50S ribosomal protein L9	*BC*	A9AJW4	-	16		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Cosntit. Estrut. de	*In./Ex.*
		AB	Q6F9Q8		16					
102	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	*BC*	A0A0H3KKE2	1.1.1.44	51	*Pentose phosphate p*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
				1.1.1.343		*Glutathione metabol*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
103	6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase	*CT*	Q0K7T9	2.5.1.78	18	*Riboflavin metabolisr*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A9AF24		19	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6F6V3		16	*Bios. second. metabo*				
104	60 chaperonin	*CT*	Q0KDR7	-	57		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KCN9		57					
		BC	A0A0H3KSP8		57					
		AB	Q6F8P6		57					
105	Outer membrane protein assembly factor BamA	*BC*	A0A0H3KFT7	-	85		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
106	Usp domain-containing protein	*BC*	A0A0H3KMQ7	-	15		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
107	ATP synthase subunit b	*BC*	A9AJG0	-	17	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
108	AAA domain-containing protein	*AB*	Q6FA22	-	33		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
109	ABC-2 type transport system ATP-binding protein	*BC*	A0A0H3KRV5	-	34		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
110	ABC-type sugar transporter, periplasmic component	*CT*	Q0K8T5	-	64	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
111	ABC-type transport system ATPase component	*BC*	A0A0H3KI06	-	28	*ABC transporters*	Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
112	ABC-type transporter, duplicated ATPase domains:Drug RA1 family	*CT*	Q0K6E2	-	62		Reg./Proces. da Tradução	Ribossomo	Hidrolase	*In./Ex.*
113	ABC-type transporter, periplasmic component	*CT*	Q0KBT6	-	34		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In.*

114	ABC-type transporter, periplasmic component:	*CT*	Q0K7B6	-	41	*ABC transporters* *Quorum sensing*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
115	ABC-type transporter, periplasmic component: MolT family	*CT*	Q0KDU6	-	27	*ABC transporters*	Sinalização e Processo Celular	Mitocondria	Transporte	*In./Ex.*
116	ABC-type transporter, periplasmic component:	*CT*	Q0KEE9	-	33 *Two-component syst*	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
117	ABC1 domain-containing protein	*AB*	Q6FCD2	-	53		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
118	ABC1 domain-containing protein	*AB*	Q6F9S9	-	49		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
119	Acetaldehyde dehydrogenase 2	*CT* *AB*	P46368 Q6FAS2	1.2.1.3	55 56	*Glycolysis / Gluconeo* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
120	Acetoacetyl-CoA reductase	*CT* *BC*	P14697 A0A0H3KFH8	1.1.1.36	26 26	*Glyoxylate metabolis* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
121	Acetoacetyl-CoA transferase, alpha subunit	*AB*	Q6F9I4	2.8.3.5	25	*Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
122	Acetoin dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KFM6	1.1.1.304 1.1.1.76	27	*Butanoate metabolism*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
123	Acetoin:2,6-dichlorophenolindophenol Oxidorredutase subunit alpha	*CT*	P27745	2.3.1.190	35		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
124	Acetoin:2,6-dichlorophenolindophenol Oxidorredutase subunit beta	*CT*	P27746	2.3.1.190	36		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
125	Acetolactate synthase	*CT* *BC* *AB*	Q0KCU4 A0A0H3KGS1 Q6F819	2.2.1.6	64 65 63	*Val., leuc. and isol. bi* *Butanoate metabolis* *C5-Branched dibasic* *Pantothenate and Co* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
126	Acetolactate synthase III small subunit	*CT* *AB*	Q0KCU3 Q6F820	2.2.1.6	18 18	*Val., leuc. and isol. bi* *Butanoate metabolis* *C5-Branched dibasic* *Pantothenate and Co* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
127	Acetolactate synthase large subunit	*BC*	A0A0H3KJN5	2.2.1.6	61	*Val., leuc. and isol. bi* *Butanoate metabolis* *C5-Branched dibasic* *Pantothenate and Co* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
128	Acetolactate synthase small subunit	*BC*	A0A0H3KKZ2	2.2.1.6	18	*Val., leuc. and isol. bi* *Butanoate metabolis* *C5-Branched dibasic* *Pantothenate and Co* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*

						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
129	Acetyl-/propionyl-coenzyme A carboxylase alpha chain	*AB*	Q6F9I0	6.3.4.14	63	*Fatty acid biosynthes*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
						Val., leuc. and isol. de				
						Pyruvate metabolism				
						Glyoxylate metabolis				
						Propanoate metabol				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolisr				
130	Acetyl-CoA acetyltransferase	*CT*	P14611	2.3.1.9	41	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		CT	Q0KBG1		41	*Synthesis/deg. ketone*				
		CT	Q0KF99		41	*Val., leuc. and isol. de*				
		CT	Q0K368		41	*Lysine degradation*				
		CT	Q0K469		41	*Benzoate degradatio*				
						Tryptophan metaboli				
						Pyruvate metabolism				
						Glyoxylate metabolis				
						Propanoate metabol				
						Butanoate metabolis				
						Terpenoid backbone				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolisr				
						Two-component syst				
131	Acetyl-CoA acyltransferase	*BC*	A0A0H3KHB1	2.3.1.16	42	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KGJ9		42	*Val., leuc. and isol. de*				
		BC	A0A0H3KFY1		41	*Geraniol degradation*				
						Benzoate degradatio				
						alpha-Linolenic acid				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Fatty acid metabolisr				
132	Acetyl-CoA C-acetyltransferase	*BC*	A0A0H3KNW7	2.3.1.9	40	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KRS2		41	*Synthesis/deg. ketone*				
		BC	A0A0H3KS85		41	*Val., leuc. and isol. de*				
						Lysine degradation				
						Benzoate degradatio				
						Tryptophan metaboli				
						Pyruvate metabolism				
						Glyoxylate metabolis				
						Propanoate metabol				
						Butanoate metabolis				
						Terpenoid backbone				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolisr				
						Two-component syst				
133	Acetyl-CoA C-acyltransferase	*CT*	Q0KEF9	2.3.1.16	42	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
						Val., leuc. and isol. de				
						Geraniol degradation				
						Benzoate degradatio				
						alpha-Linolenic acid				
						Ethylbenzene degrad				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Fatty acid metabolisr				
		CT	Q0K281		59	*Glycolysis / Gluconeo*				

134	Acetyl-CoA synthetase	*BC*	A0A0H3KSW8	6.2.1.1	63	*Pyruvate metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KRU4		60	*Glyoxylate metabolis*				
						Propanoate metabol				
						Methane metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
135	Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit alpha	*CT*	Q0KCA7	2.1.3.15	36	*Fatty acid biosynthes*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
		BC	A9AHN8	6.4.1.2	36	*Pyruvate metabolism*				
		AB	Q6F879		30	*Propanoate metabol*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolisr				
136	Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta	*BC*	A9AMA4	2.1.3.15	32	*Fatty acid biosynthes*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
				6.4.1.2		*Pyruvate metabolism*				
						Propanoate metabol				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolisr				
137	Acetyl-coenzyme A synthetase	*CT*	P31638	6.2.1.1	73	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KQ14		72	*Pyruvate metabolism*				
		AB	Q6F741		73	*Glyoxylate metabolis*				
						Propanoate metabol				
						Methane metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
138	Acetylglutamate kinase	*CT*	Q0KF61	2.7.2.8	33	*Arginine biosynthesis*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FDQ8		32	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
139	Acetylornithine aminotransferase	*BC*	A0A0H3KDU4	2.6.1.81	44	*Arginine and proline*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
140	Acetylornithine deacetylase	*BC*	A0A0H3KFN9	3.5.1.16	44	*Arginine biosynthesis*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
141	Acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	*BC*	A0A0H3KFX4	2.3.1.12	57	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
						Citrate cycle (TCA cyc				
						Pyruvate metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
142	Aconitate hydratase	*CT*	Q0K8F1	4.2.1.3	98	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Mitocondria	Liase	*In./Ex.*
		CT	Q0KAG3		95	*Glyoxylate metabolis*				
		BC	A0A0H3KKF8		99	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6F827		100	*Bios. second. metabo*				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
143	Aconitate hydratase 1	*BC*	A0A0H3KPT4	4.2.1.3	94		Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Mitocondria	Liase	*In./Ex.*
		CT	Q0K3Q9	4.2.1.3	93	*Citrate cycle (TCA cyc*				
		BC	A0A0H3KJL7		93	*Glyoxylate metabolis*				
		AB	Q6F9U3		95	*Propanoate metabol*				

144	Aconitate hydratase B			4.2.1.99		*Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Mitocondria	Liase	*In./Ex.*
145	Acyl carrier protein	*CT* *BC* *AB*	Q0K8M2 A9ADE8 Q6FDT7	-	9 9 9	*Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeo	Citoplasma	Indefinido	*In./Ex.*
146	Acyl-CoA dehydrogenase	*AB* *CT* *CT* *CT* *CT* *AB* *AB*	Q6F7U0 Q0KEG1 Q0KCR3 Q0KCR2 Q0KBF9 Q0K376 Q6FEG4 Q6FEG3	1.3.8.8	44 65 45 40 68 45 65 69	*Fatty acid degradatio* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
147	Acyl-CoA dehydrogenase, short-chain specific	*CT* *CT*	Q0K3Z2 Q0K3F2	1.3.99.-	43 40	*Caprolactam degrad* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Degradação de Ácidos graxos e	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
148	Acyl-CoA synthetase (Long-chain-fatty-acid--CoA ligase)	*AB*	Q6FFF5	6.2.1.3	62	*Fatty acid biosynthes* *Fatty acid degradatio* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr* *Quorum sensing*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Membrana plasmática	Ligase	*In./Ex.*
149	Adenosylhomocysteinase	*CT* *BC* *AB*	Q0KF25 A0A0H3KIT2 Q6FA43	3.3.1.1	52 52 51	*Cysteine and methior* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
150	Adenosylmethionine-8-amino-7-oxononanoate aminotransferase	*BC*	A0A0H3KG45	2.6.1.113	52	*Arginine and proline* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
151	Adenylate kinase	*CT* *BC* *AB*	Q0KE20 A9AGK1 Q6FD71	2.7.4.3	24 24 24	*Purine metabolism* *Thiamine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
152	Adenylosuccinate Liase	*CT* *BC* *AB*	Q0K722 A0A0H3KBX6 Q6FCW4	4.3.2.2	51 52 51	*Purine metabolism* *Alanine, aspartate ar* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
153	Adenylosuccinate synthetase	*CT* *BC* *AB*	Q0K972 A0A0H3KF93 Q6FCS7	6.3.4.4	47 48 47	*Purine metabolism* *Alanine, aspartate ar* *Metabolic pathways*	de Nucleotídeos	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
154	ADP-L-glycero-D-manno-heptose-6-epimerase	*BC*	A9ADU8	5.1.3.20	37	*Lipopolysaccharide b* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Ácidos	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
155	Aerobic-type carbon monoxide dehydrogenase homolog, large subunit	*CT*	Q0KEI3	1.2.7.4	85		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
156	Alanine dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KLS4	1.4.1.1	38	*Alanine, aspartate ar* *Taurine and hypotau* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
157	Alanine--tRNA ligase	*CT* *BC* *AB*	Q0K823 A9AC16 Q6FCT2	6.1.1.7	95 95 97	*noacyl-tRNA biosynth*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
158	Alanyl aminopeptidase N	*CT*	Q0KCX9	3.4.11.2	100	*Glutathione metabol* *Metabolic pathways*	Peptidases e inibidores	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
159	Aldehyde dehydrogenase	*AB*	Q6FES8	1.2.1.68	54		Bios. Metab. secundários	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
160	Aldehyde reductase, related to diketogulonate reductase	*CT*	Q0K6W0	1.1.1.21	31		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
161	Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	*CT*	Q0KBM7	1.11.1.28	18		Resp. Estresse	Citoplasma	Oxidorredutase	*Ex.*
162	Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	*BC*	A0A0H3KG12	1.11.1.24	19		Resp. Estresse	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*

163	Alkyl hydroperoxide reductase AhpD	*BC*	A0A0H3KCJ5	1.11.1.24	11		Resp. Estresse	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
164	Alkyl hydroperoxide reductase C	*AB* *BC*	Q6FAK2 A0A0H3KK97	1.11.1.26	21 20		Resp. Estresse	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
165	Alkyl hydroperoxide reductase subunit, FAD/NAD(P)-binding, detoxification of hydroperoxides	*AB*	Q6FCV0	1.11.1.24	56		Resp. Estresse	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
166	Alpha-2-macroglobulin-like large extracellular alpha-helical protein	*BC*	A0A0H3KRP4	-	217		Peptidases e inibidores	Membrana externa da célula	Hidrolase	*In./Ex.*
167	Amidophosphoribosyltransferase	*AB*	Q6FCL7	2.4.2.14	57	*Purine metabolism* *Alanine, aspartate ar* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
168	Amino_oxidase domain-containing protein	*AB*	Q6F770	-	50		Indefinido	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
169	Aminopeptidase	*BC*	A0A0H3KBK5	3.4.11.2	79	*Glutathione metabol* *Metabolic pathways*	Peptidases e inibidores	Membrana externa da	Hidrolase	*In./Ex.*
170	Aminopeptidase N	*AB*	Q6FAT2	3.4.11.2	99	*Glutathione metabol* *Metabolic pathways*	Peptidases e inibidores	Membrana externa da	Hidrolase	*In./Ex.*
171	Aminotransferase	*CT* *BC* *BC* *AB* *AB*	Q0KCH9 A0A0H3KGN7 A0A0H3KUU5 Q6F9C7 Q6FFR7	2.6.1.57	43 43 44 44 45	*Cysteine and methior* *Tyrosine metabolism* *Phenylalanine metab* *Phenylalanine, tyrosi* *Novobiocin biosynth* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
172	AMP nucleosidase	*BC*	A0A0H3KJX3	3.2.24	57		Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
173	Anthranilate synthase component 1	*BC* *AB*	A0A0H3KKA5 Q6FF98	4.1.3.27	55 55	*Phenylalanine, tyrosi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin* *Quorum sensing*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
174	Anthranilate synthase component 2	*AB*	P00902	4.1.3.27	22	*Phenylalanine, tyrosi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin* *Quorum sensing*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
175	Arginine biosynthesis bifunctional protein ArgJ	*BC*	A0A0H3KC00	2.3.1.35	43	*Arginine biosynthesis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
176	Arginine N-succinyltransferase	*BC*	A0A0H3KDN3	2.3.1.109	38	*Arginine and proline* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
177	Arginine--tRNA ligase	*CT* *BC* *AB*	Q0KFB0 A9AE58 Q6FFM0	6.1.1.19	65 65 67	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
178	Argininosuccinate Liase	*CT* *BC* *AB*	Q0K7M0 P59615 Q6FFB2	4.3.2.1	51 51 53	*Arginine biosynthesis* *Alanine, aspartate ar* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
179	Argininosuccinate synthase	*CT* *BC* *AB*	Q0JY61 P59608 Q6FD28	6.3.4.5	49 49 50	*Arginine biosynthesis* *Alanine, aspartate ar* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
180	Aspartate carbamoyltransferase	*CT* *BC* *AB*	Q0K7N2 A9AFI4 Q6FCR5	2.1.3.2	35 37 37	*Pyrimidine metabolis* *Alanine, aspartate ar* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*

182	Aspartate--tRNA(Asp/Asn) ligase	*CT*	Q0KEG8	6.1.1.12	68	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AFC7		68					
		AB	Q6FEH6		67					
183	Aspartate-semialdehyde dehydrogenase	*CT*	Q0K8H1	1.2.1.11	41	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KU20		40	*Monobactam biosyn*				
		AB	Q6FEU9		41	*Cysteine and methior*				
						Lysine biosynthesis				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
184	Aspartokinase	*CT*	Q0KCA5	2.7.2.4	45	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFZ0		45	*Monobactam biosyn*				
		AB	Q6FCT3		46	*Cysteine and methior*				
						Lysine biosynthesis				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
185	Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln)	*BC*	A9AC50	6.3.5.6	53	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-	Mitocondria	Ligase	*In./Ex.*
		AB	Q6FDY4	6.3.5.7	54	*Metabolic pathways*				
186	ATP phosphoribosyltransferase regulatory subunit	*CT*	Q0K971	-	42	*Histidine metabolism*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Indefinido	*In./Ex.*
		BC	A9AH05		42	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FCS8		43	*Bios. second. metabo*				
						Biosynthesis of amin				
187	ATP synthase beta subunit/transription termination factor rho	*CT*	Q0K118	-	126		Metabolismo de Nucleotídeos	Membrana plasmática	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
188	ATP synthase epsilon chain	*BC*	A9AJG5	-	15	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
		AB	Q6FFJ9		15	*Metabolic pathways*				
189	ATP synthase gamma chain	*CT*	Q0K5M6	-	32	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
		BC	A9AJG3		32	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FFK1		32					
190	ATP synthase subunit alpha	*CT*	Q0K5M5	7.1.2.2	55	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
		BC	A9AJG2	7.2.2.1	56	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FFK2		56					
191	ATP synthase subunit b	*AB*	Q6FFK4	-	17	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
192	ATP synthase subunit beta	*CT*	Q0K5M7	7.1.2.2	51	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
		BC	A9AJG4	7.2.2.1	51	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FFK0		50					
193	ATP synthase subunit delta	*BC*	A9AJG1	-	19	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
		AB	Q6FFK3		20	*Metabolic pathways*				
194	ATP-binding protease component	*AB*	Q6FCI1	-	84		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
195	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit	*BC*	A0A0H3KLK6	-	84		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
196	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit	*BC*	A0A0H3KZH7		104		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
197	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX	*CT*	Q0KBK3	-	47		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
		BC	A9AJR1		46					
		AB	Q6FEP7		48					
198	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit	*CT*	Q0KBK4	3.4.21.92	23		Peptidases e inibidores	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFL9		24					
		AB	Q6FEP8		23					
199	ATP-dependent DNA helicase RecG	*AB*	Q6F7P7	3.6.4.12	77	*Homologous recomb*	Replicação e Reparo de	DNA/Cromossomo	Hidrolase	*In./Ex.*
200	ATP-dependent DNA helicase Rep	*AB*	Q6FDR1	3.6.4.12	78		Recombinação e Reparo de	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
201	ATP-dependent helicase	*AB*	Q6FAK3	3.6.4.13	148		Metabolismo	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
202	ATP-dependent protease	*CT*	Q0KF69	-	49		Bios./Metab.	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*

	ATPase subunit HslU	*BC*	A0A0H3KB45		50		Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
203	ATP-dependent protease Clp, ATPase subunit	*CT*	Q0K1F3	-	102		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
204	ATP-dependent protease Clp, ATPase subunit	*CT*	Q0K794	-	84		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*Ex.*
205	ATP-dependent RNA helicase	*BC*	A0A0H3KQ92	3.6.4.13	53	*RNA degradation*	Metabolismo de RNA	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
206	ATP-dependent RNA helicase RhlB	*AB*	Q6FCM5	3.6.4.13	44	*RNA degradation*	Metabolismo de RNA	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
207	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH	*CT*	Q0K8Y5	3.4.24.-	69		Peptidases e inibidores	Mitocondria	Hidrolase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KME9		69					
		AB	Q6F8N2		70					
208	ATP-NAD/AcoX kinase	*BC*	A0A0H3KP21	-	37		Metab. Cofat.	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
209	Bacterial DNA-binding protein, histone-like	*CT*	Q0K1T6	-	16		Indefinido	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
210	Bacterioferritin	*CT*	Q0KEU2	1.16.3.1	18	*Porphyrin and chloro*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Membrana externa da célula	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KGK0		19					
		AB	Q6FDV6		18					
		AB	Q6F7G5		17					
211	Bacterioferritin co-migratory protein	*BC*	A0A0H3KK17	1.11.1.24	17		Indefinido	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6F9A1		18					
212	Beta sliding clamp	*CT*	Q0KFR7	2.7.7.7	41	*DNA replication*	Replicação e Reparo de DNA	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFM3		41	*Mismatch repair*				
		AB	Q6FG20		42	*Homologous recomb*				
213	Beta-ketoacyl-ACP synthase I (3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I)	*AB*	Q6FDT0	2.3.1.41	43	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
214	Beta-ketoadipyl CoA thiolase	*CT*	Q0K4S3	2.3.1.16	42	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *Geraniol degradation* *Benzoate degradatio* *alpha-Linolenic acid* *Ethylbenzene degrad* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
215	Beta-ketothiolase BktB	*CT*	Q0KBP1	2.3.1.9	41	*Fatty acid degradatio* *Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Lysine degradation* *Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *Pyruvate metabolism* *Glyoxylate metabolis* *Propanoate metabol* *Butanoate metabolis* *Terpenoid backbone* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr* *Two-component syst*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
216	Bifuctional protein	*AB*	Q6FA94	4.2.1.51 5.4.99.5	41	*Phenylalanine, tyrosi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase; Isomerase	*In./Ex.*
217	Bifunctional glutamine synthetase adenylyltransferase/adenylyl-removing enzyme	*AB*	Q6FEI9	2.7.7.89	106		Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
218	Bifunctional protein	*AB*	Q6FEN9	4.1.2.14 4.1.3.42	22	*Pentose phosphate p* *Glyoxylate metabolis* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*

						Mic.metab. in diverse	Carbo.			
						Carbon metabolism				
219	Bifunctional protein	*AB*	Q6FFS5	5.4.2.8	51	*Fructose and manno*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
						Amino sugar and nuc				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
220	Bifunctional protein FolD 2	*AB*	Q6F8N7	1.5.1.5	30	*One carbon pool by f*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Hidrolase; Oxidorredutase	*In./Ex.*
				3.5.4.9		*Metabolic pathways*				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
221	Bifunctional protein GlmU	*AB*	Q6F6U9	2.7.7.23	49	*Amino sugar and nuc*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
				2.3.1.157		*Metabolic pathways*				
222	Bifunctional purine biosynthesis protein PurH	*CT*	Q0KEC0	2.1.2.3	56	*Purine metabolism*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Transferase; Hidrolase	*In./Ex.*
		BC	A9AH70	3.5.4.10	56	*One carbon pool by f*				
		AB	Q6F9P5		56	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
223	Biotin carboxylase	*CT*	Q0KF85	6.3.4.14	73	*Val., leuc. and isol. de*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
224	Biotin carboxylase	*CT*	Q0K6X4	6.3.4.14	50	*Fatty acid biosynthes*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KKG4		50	*Pyruvate metabolism*				
		AB	Q6FBI5		51	*Propanoate metaboli*				
				6.4.1.2		*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolism				
225	Branched-chain amino acid transport system ATP-binding protein	*BC*	A0A0H3KQQ7	-	28	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
226	Branched-chain amino acid transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KN00	-	40	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
227	Branched-chain amino acid transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KII3	-	43	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
228	Branched-chain amino acid transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KNC0	-	39	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
229	Branched-chain amino acid transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KIM0	-	40	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
230	Branched-chain-amino-acid aminotransferase	*BC*	A0A0H3KHA8	2.6.1.42	34	*Cysteine and methior*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FEI8		35	*Val., leuc. and isol. de*				
						Val., leuc. and isol. bi				
						Pantothenate and Co				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
231	Carbamoyl-phosphate synthase large chain	*CT*	Q0K8Y0	6.3.5.5	118	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KDV9		119	*Alanine, aspartate ar*				
		AB	Q6F8M6		118	*Metabolic pathways*				
232	Carbamoyl-phosphate synthase small chain	*BC*	A0A0H3KE39	6.3.5.5	41	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		AB	Q6F8M7		41	*Alanine, aspartate ar*				
						Metabolic pathways				
233	Carbon monoxide dehydrogenase homolog,	*CT*	Q0KEI4	1.2.5.3	28		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
234	Carboxy-terminal protease	*BC*	A0A0H3KRK3	3.4.21.102	56		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
235	Carboxy-terminal protease for penicillin-binding protein	*AB*	Q6FEN1	3.4.21.102	80		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
236	Carboxyltransferase	*CT*	Q0KF92	6.4.1.4	58	*Val., leuc. and isol. de*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	ligase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				

237	Carboxymethylenebutenolidase	*BC*	A0A0H3KU99	3.1.1.45	26	*Chlorocyclohexane a*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
						Fluorobenzoate degr				
						Toluene degradation				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
238	Carboxypeptidase C	*BC*	A0A0H3KC37	-	57		Peptidases e inibidores	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
239	Carboxypeptidase C	*BC*	A0A0H3KX03	-	60		Peptidases e inibidores	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
240	Catabolite repression control protein	*AB*	Q6F6Z5	3.1.11.2	33	*Base excision repair*	Replicação e Reparo de	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
241	Catalase-peroxidase	*CT*	Q0K815	1.11.1.21	82	*Phenylalanine metab*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A9AGE5		80	*Tryptophan metaboli*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
242	Catechol 1,2-dioxygenase	*BC*	A0A0H3KXJ8	1.13.11.1	33	*Chlorocyclohexane a*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Benzoate degradatio				
						Fluorobenzoate degr				
						Toluene degradation				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
						Deg. aromatic compo				
243	Cation/multidrug efflux system outer membrane porin	*CT*	Q0JYI3	-	44		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
244	CDP-6-deoxy-delta-3,4-glucoseen reductase	*BC*	A0A0H3KQQ2	1.17.1.1	38	*Amino sugar and nuc*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
245	Cell division inhibitor MinD	*CT*	Q0KFI4	-	29		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
246	Cell division inhibitor, a membrane ATPase.	*AB*	Q6FDR6	-	31		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
247	Cell division protein FtsA	*BC*	A0A0H3KKD1	-	44		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
248	Cell division protein FtsZ	*AB*	Q6F708	-	42		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
249	Cell division protein ZapE	*AB*	Q6F9Z7	-	44		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
250	Cell division topological specificity factor	*CT*	Q0KFI5	-	9		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
		BC	A9AER8		9					
		AB	Q6FDR7		10					
251	Cell shape-determining protein MreC	*AB*	Q6FDY0	-	32		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Proteínas do Citoesqueleto	*In.*
252	Chaperone protein ClpB	*CT*	Q0K9H5	-	96		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFC8		96					
		AB	Q6FCS0		95					
253	Chaperone protein DnaK	*CT*	Q0K757	-	70	*RNA degradation*	Resp. Estresse	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
		BC	A9AGB8		70					
		AB	Q6F6N3		69					
254	Chaperone protein hchA (Hsp31)	*AB*	Q6FD16	4.2.1.130	32	*Pyruvate metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Hidrolase; Liase	*In./Ex.*
				3.5.1.124		*Metabolic pathways*				
						Mic.metab. in diverse				
255	Chaperone protein HscA homolog	*BC*	A9AGU7	-	66		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
256	Chaperone protein HtpG	*BC*	A0A0H3KL50	-	71		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
		AB	Q6FF82		72					
257	Chaperone SurA	*BC*	A0A0H3KM21	5.2.1.8	49		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
		AB	Q6F9W3		50					
258	Chloride peroxidase	*BC*	A0A0H3KJC0	1.11.1.10	30		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
259	Chorismate synthase	*CT*	Q0KC14	4.2.3.5	39	*Phenylalanine, tyrosi*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
		BC	A9ABG9		39	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FAR2		39	*Bios. second. metabo*				
						Biosynthesis of amin				
260	Chromosomal replication initiator protein DnaA	*AB*	Q6FG21	-	52	*Two-component syst*	Replicação e Reparo de	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*

261	Chromosome partitioning protein	*AB*	Q6F9W8	-	28		Sinalização e Processo	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
262	Chromosome partitioning protein	*AB*	Q6F9W9	-	33		Sinalização e Processo	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
263	Citrate synthase	*CT*	Q0K8G2	2.3.3.1	49	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KKG6		49	*Glyoxylate metabolis*				
		AB	Q6F8K6		47	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
264	Citrate synthase	*CT*	Q0KAG4	2.3.3.5	43	*Propanoate metabol*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KXF7		43	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6F8W4		40					
265	Cobalamin biosynthesis protein	*BC*	A0A0H3KB05	-	47		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
266	Cobalamin biosynthesis protein	*BC*	A0A0H3KBC9	-	40		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
267	Cold-shock protein, DNA-binding	*CT*	Q0K5B6	-	7		Regulação/Processamento	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*Ex.*
268	CTP synthase	*CT*	Q0KCE5	6.3.4.2	61	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AGW0		61	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FAT7		61					
269	Cysteine desulfurase IscS	*BC*	A0A0H3KFW7	2.8.1.7	46	*Thiamine metabolism*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FCE2		45	*Metabolic pathways*				
						Sulfur relay system				
270	Cysteine synthase	*CT*	Q0KAG7	2.5.1.47	36	*Cysteine and methior*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FBQ5		35	*Sulfur metabolism*				
		AB	Q6F845		34	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
271	Cysteine--tRNA ligase	*AB*	Q6FC71	6.1.1.16	54	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
272	Cytidylate kinase	*BC*	A9ADV5	2.7.4.25	24	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6F9Y6		25	*Metabolic pathways*				
273	Cytochrome c oxidase subunit 2	*BC*	A0A0H3KHS6	7.1.1.9	56	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
274	Cytochrome d terminal oxidase, polypeptide subunit I	*AB*	Q6FA37	7.1.1.7	59	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
						Two-component syst				
275	Cytochrome D-lactate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KCD2	1.1.2.4	50	*Pyruvate metabolism*	Metab. de Carbo.	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
276	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	*AB*	Q6F7J0	1.1.1.95	44	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
				1.1.1.399		*Cysteine and methior*				
						Methane metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
277	D-alanine--D-alanine ligase	*AB*	Q6F705	6.3.2.4	33	*D-Alanine metabolisr*	Biossíntese de Peptidoglicano	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
						Peptidoglycan biosyr				
						Metabolic pathways				
						Vancomycin resistan				
278	D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase	*BC*	A0A0H3KHQ5	3.4.16.4	44	*Peptidoglycan biosyr*	Biossíntese de Peptidoglican	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
279	dCTP deaminase	*AB*	Q6FE29	3.5.4.13	21	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
280	Deacylase	*BC*	A0A0H3KRF1	3.5.1.87	46	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
				3.5.1.6		*Metabolic pathways*				
281	Dehydrogenase with different specificities	*CT*	Q0K1U4	-	27		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
	Dehydrogenase with					*Fatty acid biosynthes*	Metabolismo			

282	Dehydrogenase with different specificities (Related to short-chain alcohol dehydrogenases)	*CT*	Q0KD44	1.1.1.100	27	*Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolism*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
283	Dehydrogenase, PQQ dependent	*CT*	Q0KAI6	1.1.9.1	73		Indefinido	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
284	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	*BC* *AB*	A0A0H3KI72 Q6FDN9	4.2.1.24	37 39	*Porphyrin and chloro* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Liase	*In./Ex.*
285	Diaminobutyrate--2-oxoglutarate aminotransferase (L-diaminobutyric acid transaminase)	*AB*	Q6FCX2	2.6.1.76	49	*Glycine, serine and th* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
286	Diaminopimelate epimerase	*AB*	Q6F950	5.1.1.7	31	*Lysine biosynthesis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
287	Dihydrolipoamide acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	*AB*	Q6F713	2.3.1.12	69	*Glycolysis / Gluconeo* *Citrate cycle (TCA cyc* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
288	Dihydrolipoyl dehydrogenase	*CT* *CT* *BC* *BC* *AB*	P52992 Q0KBV8 A0A0H3KJ85 A0A0H3KG46 Q6F8L3	1.8.1.4	50 62 51 62 51	*Glycolysis / Gluconeo* *Citrate cycle (TCA cyc* *Glycine, serine and th* *Val., leuc. and isol. de* *Lysine degradation* *Tryptophan metaboli* *Pyruvate metabolism* *Glyoxylate metabolis* *Propanoate metabol* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
289	Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex	*CT*	Q59098	2.3.1.12	57	*Glycolysis / Gluconeo* *Citrate cycle (TCA cyc* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Mitocondria	Transferase	*In.*
290	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex	*CT* *BC* *AB*	P52993 A0A0H3KE84 Q6F8L2	2.3.1.61	43 45 43	*Citrate cycle (TCA cyc* *Lysine degradation* *Tryptophan metaboli* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
291	Dihydroorotase	*BC* *AB*	A0A0H3KCA2 Q6FD29	3.5.2.3	38 39	*Pyrimidine metabolis* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
292	Dihydroorotate dehydrogenase (quinone)	*BC* *AB*	A9AJX4 Q6FCL9	1.3.5.2	37 36	*Pyrimidine metabolis* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
293	Dihydroxy-acid dehydratase	*CT* *AB* *BC*	Q0K4J3 Q6FCR9 A0A0H3KL02	4.2.1.9	66 65 67	*Val., leuc. and isol. bi* *Pantothenate and Co* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
		CT *BC*	Q0K7F8 A0A0H3KQK2		59 59	*Val., leuc. and isol. bi* *Pantothenate and Co*				

294	Dihydroxy-acid dehydratase			4.2.1.9		*Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
						Bios. second. metabo				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
295	DNA gyrase subunit A	*CT*	Q0KDI5	5.99.1.3	99		Replicação e Reparo de DNA	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KD24		96					
		AB	Q6F956		100					
296	DNA gyrase subunit B	*CT*	Q0KFR6	5.99.1.3	93		Replicação e Reparo de DNA	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KAZ1		91					
		AB	Q6FG18		92					
297	DNA ligase	*AB*	Q6FDW0	6.5.1.2	76	*DNA replication*	Replicação e Reparo de DNA	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
						Base excision repair				
						Nucleotide excision re				
						Mismatch repair				
298	DNA mismatch repair protein MutL	*AB*	Q6F9W0	-	74	*Mismatch repair*	Replicação e Reparo de DNA	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
299	DNA polymerase I	*BC*	A0A0H3KK24	2.7.7.7	101	*DNA replication*	Replicação e Reparo de DNA	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6F883		103	*Base excision repair*				
						Nucleotide excision re				
						Homologous recomb				
300	DNA polymerase III gamma and tau subunit	*BC*	A0A0H3KF42	2.7.7.7	85	*DNA replication*	Replicação e Reparo de DNA	DNA/Cromossomo	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
						Mismatch repair				
						Homologous recomb				
302	DNA repair protein RadA	*AB*	Q6F946	-	49		Recombinação e Reparo de DNA	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In.*
303	DNA segregation ATPase ftsk/spoIIIE proteins	*CT*	Q0KDL9	-	84		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
304	DNA topoisomerase 1	*BC*	A0A0H3KFQ6	5.6.2.1	97		Replicação e Reparo de	DNA/Cromossomo	Isomerase	*In./Ex.*
		AB	Q6FET8		98					
305	DNA topoisomerase 4 subunit A	*CT*	Q0K8C4	5.6.2.2	85		Replicação e Reparo de	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KQD1		84					
306	DNA topoisomerase 4 subunit B	*BC*	A0A0H3KGM0	5.6.2.2	73		Replicação e Reparo de DNA	DNA/Cromossomo	Isomerase	*In./Ex.*
307	DNA topoisomerase III	*CT*	Q0K5G1	5.6.2.1	98		Replicação e Reparo de DNA	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
308	DNA-binding protein HU-beta	*BC*	A0A0H3KFG7	-	10		Replicação e Reparo de	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		AB	Q6FCD8		9					
309	DNA-binding transcriptional regulator NtrC	*AB*	Q6FCH6	-	55	*Two-component syst*	Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
310	DNA-directed RNA polymerase subunit alpha	*CT*	Q0K645	2.7.7.6	36	*RNA polymerase*	Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A9ADL9		36					
		AB	Q6F7T7		37					
311	DNA-directed RNA polymerase subunit beta	*CT*	Q0K606	2.7.7.6	153	*RNA polymerase*	Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A9ADI5		153					
		AB	Q6FF90		151					
312	DNA-directed RNA polymerase subunit beta'	*CT*	Q0K607	2.7.7.6	156	*RNA polymerase*	Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A9ADI6		156					
		AB	Q6FF89		155					
313	dTDP-glucose 4-6-dehydratase	*CT*	Q0K0P7	4.2.1.46	39		Indefinido	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
314	DUF2059 domain-containing protein	*BC*	A0A0H3KHZ4	-	21		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
315	DUF2760 domain-containing protein	*BC*	A0A0H3KNX1	-	20		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
316	Efflux pump membrane transporter	*CT*	Q0K5D5	-	113	*beta-Lactam resistan*	Degradação de Ácidos graxos e	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KHJ6		115	*Cationic antimicrobic*				
		AB	Q6F8F6		115					
317	Electron transfer flavoprotein alpha	*CT*	Q0KDF9	-	31		Sinalização e Processo	Citoplasma	Indefinido	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KLU6		32					

	subunit	*AB*	Q6F954		32		Celular			
318	Electron transfer flavoprotein beta subunit	*BC*	A0A0H3KDI7	-	27		Sinalização e Processo Celular	Citoplasma	Indefinido	*In./Ex.*
		CT	Q0KDG0		27					
		AB	Q6F953		27					
319	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone	*CT*	Q0KC07	1.5.5.1	62		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KJ54		61					
320	Elongation factor 4	*AB*	Q6F9B9	3.6.5.n1	67		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
321	Elongation factor G	*CT*	Q0K611	-	77		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elongação	*In./Ex.*
		CT	Q0K4Z4		77					
		BC	A0A0H3KI38		77					
		BC	A0A0H3KLL6		77					
		AB	Q6FDS6		79					
322	Elongation factor P	*AB*	Q6FAA9	-	21		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elongação	*In./Ex.*
323	Elongation factor Ts	*CT*	Q0KA17	-	31		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elongação	*In./Ex.*
		BC	A9AIL5		31					
		AB	Q6FA54		31					
324	Elongation factor Tu	*CT*	Q0K5Z9	-	43		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elongação	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KI80		43					
		AB	Q6FF97		43					
325	Endopeptidase La	*AB*	Q6FAA1	3.4.21.53	98		Peptidases e inibidores	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
326	Enolase	*CT*	Q0KCE2	4.2.1.11	46	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
		BC	A9AGW2		46	*Methane metabolism*				
		AB	Q6FAT9		46	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
						RNA degradation				
327	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH]	*BC*	A9ALQ1	1.3.1.9	44	*Fatty acid biosynthes*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6F807		31	*Butanoate metabolis*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Fatty acid metabolisr				
328	Enoyl-CoA hydratase	*CT*	Q0K371	4.2.1.17	31	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Liase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KKC0		28	*Val., leuc. and isol. de*				
		BC	A0A0H3KWE1		28	*Geraniol degradation*				
		BC	A0A0H3KMI5		30	*Lysine degradation*				
		BC	A0A0H3KPA1		28	*Phenylalanine metab*				
						Benzoate degradatio				
						Tryptophan metaboli				
						beta-Alanine metabo				
						Aminobenzoate degr				
						Propanoate metaboli				
						Butanoate metabolis				
						Limonene and pinene				
						Caprolactam degrad				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Fatty acid metabolisr				
329	Enoyl-CoA hydratase/carnithine racemase	*CT*	Q0KAI1	4.2.1.17	27	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Citoplasma	Liase	*Ex.*
						Val., leuc. and isol. de				
						Geraniol degradation				
						Lysine degradation				
						Phenylalanine metab				
						Benzoate degradatio				
						Tryptophan metaboli				
						beta-Alanine metabo				
						Aminobenzoate degr				
						Propanoate metaboli				

						Butanoate metabolis *Limonene and pinene* *Caprolactam degrad* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Fatty acid metabolisr*	Xenobióticos			
330	Enoyl-CoA hydratase/Delta(3)-cis-delta(2)-trans-enoyl-CoA isomerase	*CT*	Q0KBG3	1.1.1.35	75	*Fatty acid degradatio* *Benzoate degradatio* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
331	Enoyl-CoA hydratase/isomerase family protein	*CT*	Q0K2J6	-	28		Indefinido	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
332	Exopolyphosphatase (ExopolyPase)	*AB*	Q6F878	3.6.1.11	56	*Purine metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
333	FAD/FMN-containing dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KHI7	-	149		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
334	FadE2-like Acyl-CoA dehydrogenase (ACAD)	*CT*	Q0KCN9	1.3.8.7	47	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
335	Fatty acid oxidation complex subunit alpha	*AB*	Q6FF68	1.1.1.35 4.2.1.17 5.1.2.3 5.3.3.8	78	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *Geraniol degradation* *Lysine degradation* *Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *beta-Alanine metabo* *Propanoate metaboli* *Butanoate metabolis* *Limonene and pinene* *Caprolactam degrad* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	Oxidorredutases; Liases; Isomerases	*In./Ex.*
336	Fe/S biogenesis protein NfuA	*AB*	Q6FDB8	-	23		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
337	Ferredoxin-NADP+ reductase	*BC* *AB*	A0A0H3KB99 Q6FA76	1.18.1.2 1.19.1.1	29 29		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
338	Ferredoxin-dependent glutamate synthase	*BC*	A0A0H3KMP3	1.4.1.13	172	*Alanine, aspartate ar* *Nitrogen metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
339	Ferric uptake regulation protein	*BC* *AB*	A9AHB4 Q6FDQ2		16 17		Regulação/Processamento	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
340	Flp pilus assembly ATPase CpaF	*CT*	Q0K4T6	7.4.2.8	48		Sinalização e Processo Celular	Indefinido	Translocase	*In./Ex.*
341	Formate-dependent phosphoribosylglycinamide formyltransferase	*AB*	Q6FAM6	2.1.2.2	44	*Purine metabolism* *One carbon pool by f* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
342	Formyltetrahydrofolate deformylase	*AB*	Q6FES6	3.5.1.10	34	*Glyoxylate metabolis* *One carbon pool by f*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
		BC *CT*	A9AEN5 Q0KCY0		37 38	*Glycolysis / Gluconeo* *Pentose phosphate p*				

343	Fructose-1,6-bisphosphatase class 1			3.1.3.11		*Fructose and manno* *Methane metabolism* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
344	Fructose-1,6-bisphosphate aldolase	*CT* *BC* *AB*	Q0KE54 A0A0H3KHA3 Q6FB10	4.1.2.13	38 39 37	*Glycolysis / Gluconeo* *Pentose phosphate p* *Fructose and manno* *Methane metabolism* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
345	Fucose operon FucU protein	*BC*	A0A0H3KNT5	-	16		Metab. de Carbo.	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
346	Fumarate hydratase class I	*CT* *BC* *AB*	Q0K8Q6 A0A0H3KKU5 Q6FEP4	4.2.1.2	55 55 55	*Citrate cycle (TCA cyc* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
347	Fumarate hydratase class II	*BC* *AB*	A0A0H3KI30 Q6FB44	4.2.1.2	50 50	*Citrate cycle (TCA cyc* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
348	GacS-like sensor kinase protein	*AB*	Q6F844	2.7.13.3	107	*Two-component syst*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transferase	*In./Ex.*
349	Gamma-glutamyl phosphate reductase	*AB*	Q6FEN5	1.2.1.41	46	*Arginine and proline* *Carbapenem biosynt* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
350	Gamma-glutamyltranspeptidase	*BC*	A0A0H3KL34	2.3.2.2 3.4.19.13	62	*Taurine and hypotau* *Cyanoamino acid me* *Glutathione metabol* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase; Hidrolase	*In./Ex.*
351	Glucokinase	*BC*	A0A0H3KLD8	2.7.1.2	69	*Glycolysis / Gluconeo* *Galactose metabolis* *Starch and sucrose m* *Amino sugar and nuc* *Streptomycin biosynt* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
352	Glucosamine-6-phosphate isomerase	*BC*	A0A0H3KMB8	2.6.1.16	35	*Alanine, aspartate ar* *Amino sugar and nuc* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
353	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	*CT* *BC* *BC*	Q0JY26 A0A0H3KNY2 A0A0H3KCQ6	1.1.1.49 1.1.1.363	54 55 55	*Pentose phosphate p* *Glutathione metabol* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
354	Glucose-6-phosphate isomerase	*BC*	A9AJR8	5.3.1.9	59	*Glycolysis / Gluconeo* *Pentose phosphate p* *Starch and sucrose m* *Amino sugar and nuc* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*

						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
355	Glutamate 5-kinase	*AB*	Q6F9D9	2.7.2.11	41	*Arginine and proline*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
						Carbapenem biosynt				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Biosynthesis of amin				
356	Glutamate dehydrogenase	*CT*	Q0JZU7	1.4.1.4	48	*Arginine biosynthesis*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6FD67		49	*Alanine, aspartate ar*				
						Nitrogen metabolism				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
357	Glutamate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KM91	1.4.1.4	179		Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
358	Glutamate synthase [NADPH] small chain	*CT*	Q0K673	1.4.1.13	53	*Alanine, aspartate ar*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*Ex.*
						Nitrogen metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Biosynthesis of amin				
359	Glutamate synthase [NADPH], Glutamate synthase amidotransferase domain	*CT*	Q0K672	1.4.1.13	175	*Alanine, aspartate ar*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*Ex.*
						Nitrogen metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Biosynthesis of amin				
360	Glutamate synthase large chain	*AB*	Q6F7E7	1.4.1.13	163	*Alanine, aspartate ar*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Nitrogen metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Biosynthesis of amin				
361	Glutamate synthase small chain	*AB*	Q6F7E8	1.4.1.13	52	*Alanine, aspartate ar*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Nitrogen metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Biosynthesis of amin				
362	Glutamate--tRNA ligase	*CT*	Q0K926	6.1.1.17	52	*Porphyrin and chloro*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AHQ3		52	*Aminoacyl-tRNA bios*				
		AB	Q6F7C8		58	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
363	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase	*BC*	A9AEU0	5.4.3.8	45	*Porphyrin and chloro*	Bios. Metab. secundários	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FCY1		46	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
364	Glutamate/aspartate transport protein (ABC	*AB*	Q6FAP2	7.4.2.1	28	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
						Two-component syst				
365	Glutamate/aspartate transport protein (ABC	*AB*	Q6FAN9	-	32	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Two-component syst				
366	Glutamine synthetase	*CT*	Q0K990	5.4.4.3	52	*Aminobenzoate degr*	Degradação de Ácidos graxos e	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KKR5		52	*Mic.metab. in diverse*				
		AB	Q6F9N5		52					
367	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotransferase	*CT*	Q0KF06	2.6.1.16	66	*Alanine, aspartate ar*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KBQ2		65	*Amino sugar and nu*				
		AB	Q6F6U8		68	*Metabolic pathways*				
368	Glutamine-dependent NAD(+) synthetase	*AB*	Q6F8K4	6.3.5.1	61	*Nicotinate and nicoti*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
369	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit	*BC*	A9AC51	6.3.5.7 6.3.5.6	53	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
						Metabolic pathway				
370	Glutaredoxin	*AB*	Q6FCV2	-	13		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
	Glutaryl-CoA	*CT*	Q0K7X5		44	*Fatty acid degradatio*	Degradação de Ácidos graxos			
		BC	A0A0H3KH47		43	*Lysine degradation*				
						Benzoate degradatio				

371	Glutaryl-CoA dehydrogenase			1.3.8.6		*Tryptophan metaboli* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
372	Glutathione peroxidase	*AB*	Q6FAL9	1.11.1.9	18	*Glutathione metabol* *Arachidonic acid met* *Metabolic pathways*	Resp. Estresse	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
373	Glutathione synthetase	*BC* *AB*	A0A0H3KRK7 Q6F702	6.3.2.3	35 35	*Cysteine and methior* *Glutathione metabol* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
374	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	*CT* *BC* *AB*	Q0K700 A0A0H3KBV8 Q6F9D5	1.2.1.12	36 36 53	*Glycolysis / Gluconeo* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
375	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, plasmid	*CT*	P50322	1.2.1.12	36	*Glycolysis / Gluconeo* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
376	Glycerol-3-phosphate acyltransferase	*AB*	Q6F7Q0	2.3.1.15	97	*Glycerolipid metaboli* *Glycerophospholipid* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Membrana plasmática	Transferase	*In./Ex.*
377	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase	*AB*	Q3V7H1	1.1.1.94	39	*Glycerophospholipid* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Ácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
378	Glycerol-3-phosphate regulon repressor	*BC*	A0A0H3KHE0	-	29		Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
379	Glycine dehydrogenase (decarboxylating)	*CT*	Q0K5P3	1.4.4.2	105	*Glycine, serine and th* *Glyoxylate metabolis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Carbon metabolism*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*Ex.*
380	Glycine--tRNA ligase alpha subunit	*BC* *AB*	A0A0H3KR80 Q6F7L9	6.1.1.14	38 37	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
381	Glycine--tRNA ligase beta subunit	*AB*	Q6F7L8	6.1.1.14	75	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
382	GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	*CT* *BC* *AB*	Q0KA43 A9AIP4 Q6FFN2	6.3.5.2	60 59 61	*Purine metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	ligase	*In./Ex.*
383	GntR family transcriptional repressor for pyruvate dehydrogenase complex	*BC*	A0A0H3KI81	-	28		Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
384	GTP cycloHidrolase 1	*BC*	A0A0H3KJ71	3.5.4.16	23	*Tetrahydrofolate bios*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
385	GTP pyrophosphokinase (ATP:GTP 3'-pyrophosphotransferase) (PpGpp synthetase I) ((P)ppGpp synthetase)	*AB*	Q6F848	2.7.6.5	88	*Purine metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
386	GTP-binding elongation factor family protein	*CT* *AB*	Q0K9D1 Q6FE94	-	67 68		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Fator de Tradução/Elongação	*In./Ex.*
387	GTP-binding protein	*BC*	A0A0H3KN51	-	68		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
388	GTPase Der	*AB*	Q6FEL9	-	54		Metabolismo de RNA	Indefinido	GTPase	*In./Ex.*

389	GTPase Era	*BC* *AB*	A0A0H3KI63 Q6F9C3	-	33 39		Metabolismo de RNA	Citoplasma	GTPase	*In./Ex.*
390	GTPase Obg	*CT* *BC* *AB*	Q0K6P6 A9AI60 Q6F9D8	-	40 40 44		Metabolismo de RNA	Citoplasma	GTPase	*In./Ex.*
391	Guanylate kinase	*BC*	A0A0H3KD17	2.7.4.8	25	*Purine metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
392	Haloacetate dehalogenase	*BC*	A0A0H3KBF0	3.8.1.3	33	*Chlorocyclohexane a* *Chloroalkane and ch* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
393	Heat-inducible transcription repressor HrcA	*BC*	A9AGC4	-	37		Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
394	Hemolysin activation/secretion protein	*BC*	A0A0H3KEV3	-	60		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
395	Hemolysin activation/secretion protein	*BC*	A0A0H3KMA0	-	64		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
396	Histidine biosynthesis bifunctional protein HisIE	*AB*	Q6FF30	3.5.4.19	29	*Histidine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
397	Histidine--tRNA ligase	*BC*	A9AGZ7	6.1.1.21	50	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
398	Histidinol dehydrogenase	*CT* *BC* *AB*	Q0K687 Q845V3 Q6FEC8	1.1.1.23	48 47 47	*Histidine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
399	Histone H1-like protein	*BC*	A0A0H3KKG0	-	20		Indefinido	DNA/Cromossomo	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
400	Histone-like DNA-binding protein	*BC*	A0A0H3KU30	-	15		Indefinido	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
401	HIT domain-containing protein	*AB*	Q6FCE9	-	16		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
402	Holliday junction ATP-dependent DNA helicase RuvB	*AB*	Q6F991	3.6.4.12	37	*Homologous recomb*	Recombinação e Reparo de DNA	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
403	Homocysteine synthase	*AB*	Q6F7B9	2.5.1.49	46	*Cysteine and methior* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
404	Homoserine dehydrogenase	*BC* *AB*	A0A0H3KK04 Q6FFC8	1.1.1.3	47 47	*Glycine, serine and th* *Cysteine and methior* *Lysine biosynthesis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
405	Homoserine O-succinyltransferase	*BC*	A9AC42	2.3.1.46 2.3.1.31	42	*Cysteine and methior* *Sulfur metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
406	HPr kinase/phosphorylase	*BC*	A9AEZ6	-	35		Metab. de Carbo.	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
407	HTH-type transcriptional regulator EstR	*AB*	P52667	-	34		Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
408	HtrA-like serine protease	*AB*	Q6FCJ4	-	42		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*

409	Hidrolase_4 domain-containing protein	*AB*	Q6FAZ3	-	40		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
410	Hydroxymethylglutaryl-CoA Liase	*CT*	Q0KF83	4.1.3.4	33	*Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Geraniol degradation* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
411	IclR family transcriptional regulator	*BC*	A0A0H3KKP8	-	30		Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
412	Imidazole glycerol phosphate synthase subunit HisF	*CT* *BC* *AB*	Q0K693 Q845U7 Q6F799	4.3.2.10	27 27 27	*Histidine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
413	Imidazoleglycerol-phosphate dehydratase	*CT* *BC* *AB*	Q0K689 Q845V1 Q6F7A8	4.2.1.19	22 21 23	*Histidine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
414	Indole-3-glycerol phosphate synthase	*AB*	P00911	4.1.1.48	30	*Phenylalanine, tyrosi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
415	Indolepyruvate ferredoxin Oxidorredutase	*CT* *BC*	Q0JZR2 A0A0H3KIM4	1.2.7.8	129 130		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
416	Inorganic pyrophosphatase	*AB*	Q6FFF2	3.6.1.1	19	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
417	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	*CT* *BC* *AB*	Q0KA41 A0A0H3KFS6 Q6F716	1.1.1.205	52 52 52	*Purine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
418	Inositol-1-monophosphatase	*BC*	A0A0H3KPP2	3.1.3.25	30	*Streptomycin biosynt* *Inositol phosphate m* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Bios. Metab. secundários	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
419	Integration host factor subunit alpha	*BC* *AB*	A0A0H3KN33 Q6F874	-	14 11		Recombinação e Reparo de	DNA/Cromossomo	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
420	Integration host factor	*AB*	Q6F9Y8	-	11		Recombinação	DNA/Cromo	Ligação ao	*In./Ex.*
421	Iron complex outer	*BC*	A0A0H3KLP5	-	75		Proc. de Info.	Membrana	Receptor	*In./Ex.*
422	Iron-sulfur cluster assembly scaffold protein	*BC* *AB*	A0A0H3KG35 Q6FCE3	-	14 14		Metabolismo Energético	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
423	Iron-sulfur cluster carrier protein	*BC*	A0A0H3KGM1		38		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
424	Isocitrate dehydrogenase [NADP]	*CT* *BC* *AB*	Q0JZW1 A0A0H3KLL1 Q6FCZ5	1.1.1.42	82 80 82	*Citrate cycle (TCA cyc* *Glutathione metabol* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
425	Isocitrate dehydrogenase [NADP]	*CT* *BC* *AB*	Q0K790 A0A0H3KHD1 Q6FCZ2	1.1.1.42	46 46 48	*Citrate cycle (TCA cyc* *Glutathione metabol* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
426	Isocitrate Liase	*CT* *BC* *AB*	Q0K9L3 A0A0H3KFX3 Q6FD89	4.1.3.1	58 48 59	*Glyoxylate metabolis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
427	Isovaleryl-CoA	*CT*	Q0KA98	1.3.8.4	43	*Val., leuc. and isol. de*	Metab. de	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*

	dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KNT9	1.3.8.4	43	*Metabolic pathways*	Aminoácidos	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
428	Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+))	*CT*	Q0KCU2	1.1.1.86	36	*Val., leuc. and isol. bi*	Metab. de	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A9AJN1		36	*Pantothenate and CoA biosynthesis*				
		AB	Q6F821		37	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabolites				
						2-Oxocarboxylic acid metab.				
						Biosynthesis of amino acids				
429	L-2,4-diaminobutyrate decarboxylase	*AB*	Q6FCX1	4.1.1.86	56	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
430	L-arabinose-binding periplasmic protein	*BC*	A0A0H3KKI0	-	35	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
431	L-aspartate oxidase	*BC*	A0A0H3KGT3	1.4.3.16	58	*Alanine, aspartate ar*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6F9B6		61	*Nicotinate and nicoti*				
						Metabolic pathways				
432	L-iditol 2-dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KV46	1.1.1.14	37		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
433	L-threonine dehydratase	*AB*	Q3V7H0	4.3.1.19	57	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
						Val., leuc. and isol. bi				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
434	Leucine--tRNA ligase	*AB*	Q6F817	6.1.1.14	98	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
435	Lipoprotein	*BC*	A0A0H3KMC5	-	29	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
436	Lipoprotein	*BC*	A0A0H3KJX1	-	30		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
437	Lipoprotein	*BC*	A0A0H3KMM9	-	33		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
438	Lipoprotein-34	*BC*	A0A0H3KJ68	-	44		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
439	Lon protease	*CT*	Q0KBK2	3.4.21.53	89		Peptidases e inibidores	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KPD0		89					
		AB	Q6FD62		90					
440	Long-chain fatty-acid-CoA ligase	*BC*	A0A0H3KBP1	6.2.1.3	61	*Fatty acid biosynthes*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Mitocondria	ligase	*In./Ex.*
						Fatty acid degradatio				
						Metabolic pathways				
						Fatty acid metabolism				
						Quorum sensing				
441	Long-chain-fatty-acid-CoA ligase	*CT*	Q0K5Z8	6.2.1.3	61	*Fatty acid degradatio*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Mitocondria	ligase	*In./Ex.*
442	LPS-assembly protein LptD	*AB*	Q6F9W4	-	93		Sinalização e Processo Celular	Membrana externa da célula	Transporte	*In./Ex.*
443	Lysine decarboxylase	*BC*	A0A0H3KQI1	4.1.1.18	86	*Arginine and proline*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
444	Lysine--tRNA ligase	*CT*	Q0KCG3	6.1.1.16	58		Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AGV1		58	*noacyl-tRNA biosynth*				
		AB	Q43990		58					
445	Lysophospholipase, contains weak SAM-dependent methyltransferase domain	*CT*	Q0K9Y0	-	65		Indefinido	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
446	Magnesium and cobalt efflux protein	*AB*	Q6FEZ9	-	31		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*

447	Magnesium and cobalt transport protein	*AB*	Q6F7P3		42		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In.*
448	Malate dehydrogenase	*CT*	Q0K8F5	1.1.1.37	35	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A9AMD5		35	*Cysteine and methior*				
		AB	Q6F7X1		35	*Pyruvate metabolism*				
						Glyoxylate metabolis				
						Methane metabolism				
						Carbon fixation in ph				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
449	Malate synthase	*CT*	Q0K9K7	2.3.3.9	59	*Pyruvate metabolism*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KPM		59	*Glyoxylate metabolis*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
450	Malate synthase G	*BC*	A0A0H3KP87	2.3.3.9	79		Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6F9Z8		80					
451	Malic enzyme (NADP)	*CT*	Q0KCX7	1.1.1.40	83	*Pyruvate metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Carbon fixation in ph				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
452	Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase	*AB*	Q6FDT9	2.3.1.39	34	*Fatty acid biosynthes*	Metabolismo de Ácidos graxos/Lipídeos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Fatty acid metabolism				
453	Membrane alanyl aminopeptidase	*BC*	A0A0H3KHQ1	3.4.11.2	100	*Glutathione metabol*	Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
454	Membrane fusion protein	*BC*	A0A0H3KQZ4	-	44	*beta-Lactam resistan*	Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Cationic antimicrobio				
455	Membrane protein insertase YidC	*AB*	Q6F6L0	-	66	*Quorum sensing*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Protein export				
						Bacterial secretion sy				
456	MerR family	*BC*	A0A0H3KMN3	-	30		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
457	Methionine synthase	*AB*	Q6FDC4	2.1.1.13	136	*Cysteine and methior*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
						Selenocompound met				
						One carbon pool by f				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Biosynthesis of amin				
458	Methionine--tRNA ligase	*CT*	Q0K7K0	6.1.1.10	76	*Selenocompound met*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AHJ8		80	*Aminoacyl-tRNA bios*				
		AB	Q6FE36		77	*Metabolic pathways*				
459	Methyl-accepting chemotaxis protein	*BC*	A0A0H3KJQ5	-	60		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
460	Methylenetetrahydrofolate reductase	*BC*	A0A0H3KIB2	1.5.1.20	30	*One carbon pool by f*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6FA42		31	*Metabolic pathways*				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
461	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase	*CT*	Q0K1Z2	1.2.1.27	53	*Val., leuc. and isol. de*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KN76	1.2.1.18	54	*beta-Alanine metabo*				
		BC	A0A0H3KL92		54	*Inositol phosphate m*				
						Propanoate metabol				
						Metabolic pathways				
						Carbon metabolism				
462	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase, Oxidorredutase protein	*AB*	Q6FBV8	1.2.1.18	54	*Val., leuc. and isol. de*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
				1.2.1.27		*beta-Alanine metabo*				
						Inositol phosphate m				
						Propanoate metabol				
						Metabolic pathways				
						Carbon metabolism				
463	Molybdate transport	*BC*	A0A0H3KPK9	-	28		Indefinido	Indefinido	Transporte	*In./Ex.*

464	MoxR-like ATPase	*CT*	Q0KCL2	-	34		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KGH9		32					
465	Multiple sugar transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KHL5	-	44	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Indefinido	Transporte	*In.*
466	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase	*BC*	A0A0H3KMX3	1.2.1.38	34	*Arginine biosynthesis*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		AB	Q6FCI4		38	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						2-Oxocarboxylic acid				
						Biosynthesis of amin				
467	N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide mutase	*AB*	Q6F6M9	5.4.99.18	18	*Purine metabolism*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
468	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	*CT*	Q0KCL6	1.2.1.28	49	*Xylene degradation*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Toluene degradation				
						Aminobenzoate degr				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
						Deg. aromatic compo				
469	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KBY8	1.2.1.3	60		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
470	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KNU6	1.2.1.3	51	*Glycolysis / Gluconeo*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Ascorbate and aldaro				
						Fatty acid degradatio				
						Val., leuc. and isol. de				
						Lysine degradation				
						Arginine and proline				
						Histidine metabolism				
						Tryptophan metaboli				
						beta-Alanine metabo				
						Glycerolipid metaboli				
						Pyruvate metabolism				
						Chloroalkane and ch				
						Pantothenate and Co				
						Limonene and pinene				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
471	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KN41	1.2.1.-	56	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Pyruvate metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
472	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KNS0	1.2.1.9	59	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Pentose phosphate p				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
473	NAD-dependent aldehyde dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KPC8	-	52		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
474	NAD-dependent malic enzyme	*AB*	Q6FFL8	1.1.1.38	63	*Pyruvate metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Carbon metabolism				
						Two-component syst				
475	NAD-specific glutamate dehydrogenase	*CT*	Q0KBX7	1.4.1.2	179	*Arginine biosynthesis*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
						Alanine, aspartate ar				
						Taurine and hypotau				
						Nitrogen metabolism				
						Metabolic pathways				
						Mic.metab. in diverse				
476	NADH dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KK03	7.1.1.2	48	*Oxidative phosphory*	Metabolismo	Indefinido	Translocase	*In./Ex.*
477	NADH-quinone Oxidorredutase	*BC*	A0A0H3KG58	7.1.1.2	83	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Indefinido	Translocase	*In./Ex.*
		AB	Q6FE66		98	*Metabolic pathways*				
478	NADH-quinone Oxidorredutase subunit A	*AB*	Q6FE71	7.1.1.2	20	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
479	NADH-quinone Oxidorredutase subunit C	*BC*	A9AFY9	7.1.1.2	23	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				

480	NADH-quinone Oxidorredutase subunit	*AB*	Q6FE69	7.1.1.2	68	*Oxidative phosphory.* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
481	NADH-quinone Oxidorredutase subunit	*CT* *BC*	Q0KCS7 A9AFZ0	7.1.1.2	48 47	*Oxidative phosphory.* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
482	NADH-quinone Oxidorredutase subunit F	*CT*	Q0KCS5	7.1.1.2	48	*Oxidative phosphory.* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
483	NADH-quinone Oxidorredutase subunit F	*BC* *AB*	A0A0H3KKY2 Q6FE67	7.1.1.2	48 49	*Oxidative phosphory.* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
484	NADH-quinone Oxidorredutase subunit	*AB*	Q6FE65	7.1.1.2	37	*Oxidative phosphory.* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
485	NADH-quinone Oxidorredutase subunit I	*AB*	Q6FE64	7.1.1.2	20	*Oxidative phosphory.* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
486	NADP-dependent aryl-alcohol dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KBE0	1.1.1.91	38		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
487	NADP-dependent aryl-alcohol dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KSK5	1.1.1.91	34		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
488	NADP-dependent oxaloacetate-decarboxylating malate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KS55	1.1.1.40	81	*Pyruvate metabolism* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
489	NADP-dependent oxaloacetate-decarboxylating malate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KKJ3	1.1.1.40	83	*Pyruvate metabolism* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
490	NADP-dependent succinate-semialdehyde dehydrogenase	*BC* *BC* *AB*	A0A0H3KY33 A0A0H3KLN1 Q6F768	1.2.1.16	52 51 52	*Alanine, aspartate ar* *Lysine degradation* *Tyrosine metabolism* *Butanoate metabolis* *Nicotinate and nicoti* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
491	NADPH-dependent carbonyl reductase	*BC*	A0A0H3KHT8	1.1.1.184	24		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
492	NADPH-dependent glutamate synthase	*BC*	A0A0H3KCB4	1.4.1.13	59		Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In.*
493	NADPH-dependent glutamate synthase small chain	*BC*	A0A0H3KI02	1.4.1.13	54	*Alanine, aspartate ar* *Nitrogen metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
494	NADPH2-dependent 2,4-dienoyl-CoA reductase	*BC*	A0A0H3KJL6	1.3.1.34	73		Indefinido	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
495	NADPH2:quinone reductase	*BC* *BC* *BC*	A0A0H3KL17 A0A0H3KG62 A0A0H3KE11	1.6.5.5	34 36 34		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
496	Nicotinate phosphoribosyltransfera	*AB*	Q6F6W1	6.3.4.21	48	*Nicotinate and nicoti* *Metabolic pathways*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	LIgase	*In./Ex.*
497	Nitrogen regulatory protein P-II	*BC* *CT*	A0A0H3KH38 Q0KDM3	-	12 12		Regulação/Processamento	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
498	Nucleoside diphosphate kinase	*CT* *BC* *AB*	Q0K958 A9AGZ3 Q6FEM7	2.7.4.6	15 15 15	*Purine metabolism* *Pyrimidine metabolis.* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
499	Nucleotide-binding protein ACIAD3059	*AB*	Q6F856	-	33		Metabolismo de RNA	Indefinido	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
500	O-Acetylhomoserine sulfhydrylase	*CT*	Q0JZ13	2.5.1.49	45	*Cysteine and methior* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
501	O-acyltransferase WSD	*AB*	Q8GGG1	2.3.1.20 2.3.1.75	52	*Glycerolipid metaboli* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Ácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
502	O-succinylhomoserine sulfhydrylase	*AB*	Q6FA16	-	43	*Cysteine and methior* *Sulfur metabolism* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*

503	Oligopeptidase A	*AB*	Q6F7U8	3.4.24.70	78		Peptidases e inibidores	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
504	OOP family OmpA-OmpF porin	*BC*	A0A0H3KLS5	-	24		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
505	Ornithine carbamoyltransferase	*BC*	A0A0H3KH53	2.1.3.3	35	*Arginine biosynthesis*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FCH8		34	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
						Biosynthesis of amin				
506	Orotate phosphoribosyltransfera	*BC*	A0A0H3KIC1	2.4.2.10	26	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6F6Z6		23	*Metabolic pathways*				
507	Orotidine 5'-phosphate decarboxylase	*CT*	Q0K6Y9	4.1.1.23	30	*Pyrimidine metabolis*	Metabolismo de	Indefinido	Liase	*Ex.*
						Metabolic pathways				
508	Osmotically inducible protein	*BC*	A0A0H3KJV4	1.11.1.28	15		Resp. Estresse	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
509	Outer membrane efflux protein	*CT*	Q0K345	-	64	*beta-Lactam resistan*	Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
510	Outer membrane porin	*BC*	A0A0H3KJY8	-	39		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KGK2		41					
		BC	A0A0H3KL84		38					
		BC	A0A0H3KKJ1		40					
		BC	A0A0H3KLC3		41					
		BC	A0A0H3KRN7		37					
		BC	A0A0H3KMM		41					
		BC	A0A0H3KVM		38					
		BC	A0A0H3KRX7		26					
511	Outer membrane protein (AdeC-like)	*AB*	Q6F8F5	-	53	*beta-Lactam resistan*	Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In./Ex.*
						Quorum sensing				
512	Outer membrane protein (Porin)	*CT*	Q0KFI6	-	39		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*Ex.*
513	Outer membrane protein assembly factor BamA	*BC*	A0A0H3KFT7	-	85		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In./Ex.*
		AB	Q6FCG7		92					
514	Outer membrane protein assembly factor BamD	*BC*	A0A0H3KFI5	-	31		Sinalização e Processo Celular	Membrana externa da célula	Transporte	*In./Ex.*
515	Outer membrane protein or related peptidoglycan-associated (Lipo)protein	*CT*	Q0KDI6	-	23		Sinalização e Processo Celular	Membrana externa da célula	Transporte	*In./Ex.*
516	Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase	*AB*	Q6F7N3	1.3.3.3	37	*Porphyrin and chloro*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
517	PadR-like family transcriptional regulator	*BC*	A0A0H3KNC9	-	27		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
518	ParA-like ATPase	*BC*	A0A0H3KLB1	-	24		Sinalização e Processo	Indefinido	Proteínas do Citoesqueleto	*In./Ex.*
519	Paraquat-inducible protein	*AB*	Q6F8Y3	-	61		Indefinido	Membrana plasmática	Indefinido	*In./Ex.*
520	Paraquat-inducible protein B	*BC*	A0A0H3KGX9	-	59		Indefinido	Membrana plasmática	Indefinido	*In./Ex.*
521	Peptide chain release factor 2	*AB*	Q6F721	-	38		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elong	*In.*
522	Peptide chain release factor 3	*AB*	Q6F823	-	60		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elong	*In./Ex.*
523	Peptide deformylase	*AB*	Q6FFH6	3.5.1.88	20		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
524	Peptide methionine sulfoxide reductase MsrB	*AB*	Q6FAL8	1.8.4.12	16		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
525	Peptide/nickel transport system ATP-binding	*BC*	A0A0H3KFY2	-	59	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
526	Peptide/nickel transport system substrate-binding	*BC*	A0A0H3KJW2	-	60	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Bacterial chemotaxis				
527	Peptide/nickel transport system substrate-binding	*BC*	A0A0H3KIB7	-	57	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Bacterial chemotaxis				
528	Peptidoglycan-associated protein	*CT*	Q0K7W6	-	18		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KCB9		19					
529	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*CT*	Q0K802	5.2.1.8	12		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*Ex.*
530	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*BC*	A0A0H3KPN8	5.2.1.8	20	*Cationic antimicrobio*	Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*

531	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*BC*	A0A0H3KFZ4	5.2.1.8	18		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
532	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*AB*	Q6FDE0	5.2.1.8	12		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
533	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*AB*	Q6FG04	5.2.1.8	18		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
534	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*AB*	Q6FB14	5.2.1.8	19		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
535	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	*AB*	Q6FCZ8	5.2.1.8	17		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
536	Peptidylprolyl isomerase	*BC*	A0A0H3KPC0	5.2.1.8	29		Bios./Metab. Proteínas	Membrana plasmática	Isomerase	*In./Ex.*
537	Periplasmic binding protein/LacI	*BC*	A0A0H3KJG7	-	34	*ABC transporters* *Bacterial chemotaxis*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
538	Permease of the major facilitator superfamily	*BC*	A0A0H3KH59	-	59		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
539	Peroxidase	*BC*	A0A0H3KCD4	1.11.1.24	24		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
540	Peroxiredoxin	*CT*	Q0KBM6	1.11.1.28	20		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
541	Peroxiredoxin	*CT*	Q0K7X4	1.11.1.24	24		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
542	Peroxiredoxin	*CT*	Q0JZ03	1.11.1.24	25		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
543	Phasin family protein	*BC*	A0A0H3KPT7	-	20		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
544	PHB domain-containing protein	*AB*	Q6F8D7	-	31		Indefinido	Membrana plasmática	Indefinido	*In./Ex.*
545	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit	*AB*	Q6F872	6.1.1.20	37	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
546	Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit	*BC* *AB*	A0A0H3KES3 Q6F873	6.1.1.20	89 88		Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
547	PhoH-like ATPase	*BC*	A0A0H3KFQ5	-	66		Sinalização e Processo	Indefinido	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
548	Phosphate starvation-inducible protein (PhoH-like)	*AB*	Q6F7W7	-	41		Sinalização e Processo Celular	Indefinido	Ligação/Síntese de ATP	*In./Ex.*
549	Phosphate-binding protein PstS	*BC*	A0A0H3KDL2	-	36	*ABC transporters* *Two-component syst*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
550	Phosphate-specific transport system accessory protein PhoU	*AB*	Q6FFB4	-	27		Sinalização e Processo Celular	Citoplasma	Transporte	*In./Ex.*
551	Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase	*CT*	Q0KCK8	2.5.1.54	39	*Phenylalanine, tyrosi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin* *Quorum sensing*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
552	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP]	*BC* *AB*	A0A0H3KRG7 Q6F8P2	4.1.1.32	68 67	*Glycolysis / Gluconeo* *Citrate cycle (TCA cyc* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Liase	*In./Ex.*
553	Phosphoenolpyruvate carboxylase	*CT* *BC* *AB*	Q0K7M4 A0A0H3KQH6 Q6F6Q6	4.1.1.31	112 110 102	*Pyruvate metabolism* *Methane metabolism* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
554	Phosphoenolpyruvate synthase	*CT* *BC* *AB*	Q0KA33 A0A0H3KFN8 Q6F9R7	2.7.9.2	87 88 87	*Glycolysis / Gluconeo* *Pyruvate metabolism* *Methane metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
555	Phosphoenolpyruvate-protein	*AB*	Q6FEW8	2.7.3.9	86	*Phosphotransferase*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transferase	*In./Ex.*
556	Phosphogluconate dehydratase	*CT* *AB*	Q0JY25 Q6FEP0	4.2.1.12	66 66	*Pentose phosphate p* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
	Phosphoglucosamine	*CT*	Q0K8Y7		48	*Amino sugar and nuc*	Metab. de			

557	Phosphoglucosamine mutase	*BC*	A9ACL5	5.4.2.10	47	*Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
		AB	Q6F717		48					
558	Phosphoglycerate kinase	*BC*	A0A0H3KLU3	2.7.2.3	41	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FB08		41	*Carbon fixation in ph*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
559	Phosphomannomutase	*CT*	Q0KAM1	5.4.2.8	50	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KHG2		50	*Pentose phosphate p*				
						Fructose and manno				
						Galactose metabolis				
						Purine metabolism				
						Starch and sucrose m				
						Amino sugar and nuc				
						Streptomycin biosynt				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
560	Phosphomethylpyrimidine synthase	*BC*	A9ACX9	4.1.99.17	71	*Thiamine metabolism*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
		AB	Q6FFB6		71	*Metabolic pathways*				
561	Phosphopantetheine adenylyltransferase	*AB*	Q6F8K0	2.7.7.3	19	*Pantothenate and Co*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
562	Phosphoribosylamine--glycine ligase	*CT*	Q0KD60	6.3.4.13	45	*Purine metabolism*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KQ70		46	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6F9P4		47	*Bios. second. metabo*				
563	Phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide	*CT*	Q0KE53	6.3.2.6	33	*Purine metabolism*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KR09		33	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6F6U0		27	*Bios. second. metabo*				
564	Phosphoribosylformylglycinamidine cyclo-ligase	*BC*	A9AGA9	6.3.3.1	37	*Purine metabolism*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		AB	Q6F973		38	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
565	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase	*BC*	A0A0H3KFG9	6.3.5.3	146	*Purine metabolism*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		AB	Q6F994		140	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
566	Phosphoserine aminotransferase	*AB*	Q6F961	2.6.1.52	39	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
						Cysteine and methior				
						Methane metabolism				
						Vitamin B6 metabolis				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
567	Phosphoserine phosphatase	*AB*	Q6F6V6	3.1.3.3	44	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
						Methane metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
568	Phosphotransferase system enzyme I	*BC*	A0A0H3KHJ2	2.7.3.9	90	*Phosphotransferase*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transferase	*In./Ex.*
569	Pilus assembly protein	*BC*	A0A0H3KEK3	-	46		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Sistema de Secreção	*In./Ex.*
570	Pilus assembly protein	*BC*	A0A0H3KJ97	7.4.2.8	49		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Translocase	*In./Ex.*
571	PKHD-type hydroxylase ACIAD0531	*AB*	Q6FEQ1	-	26		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
572	PlsC domain-containing protein	*AB*	Q6FDR3	-	35		Indefinido	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
573	PmbA protein	*BC*	A0A0H3KDK1	-	49		Peptidases e inibidores	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
574	Polar amino acid transport system	*BC*	A0A0H3KC99	-	27	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Two-component syst				
575	Polar amino acid	*BC*	A0A0H3KKM9	-	33	*ABC transporters*	Proc. de Info.	Membrana	Transporte	*In./Ex.*

	transport system	BC	A0A0H3KKM9	-	33	*Two-component syst*	Ambiental	plasmática	transporte	*In./Ex.*
576	Polar amino acid transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KJH2	-	27		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
577	Polar amino acid transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KTS6	-	28		Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
578	Poly(A) polymerase I	*BC*	A0A0H3KC79	2.7.7.19	57	*RNA degradation*	Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6F852		56					
579	Polyphosphate kinase	*AB*	Q43991	2.7.4.1	79	*Oxidative phosphory*	Metabolismo Energético	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
						RNA degradation				
580	Polyribonucleotide nucleotidyltransferase	*CT*	Q0KCT4	2.7.7.8	78	*RNA degradation*	Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A9AJP0		77					
		AB	Q6FF12		75					
581	Porphobilinogen deaminase	*AB*	Q6FFA9	2.5.1.61	34	*Porphyrin and chloro*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Transferase	*In.*
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
582	PPK2 domain-containing protein	*BC*	A0A0H3KB31	-	32		Indefinido	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
583	Predicted membrane-bound protease subunit	*CT*	Q0K824	-	25		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*Ex.*
584	Predicted nucleoside-diphosphate-sugar epimerase	*BC*	A0A0H3KDD2	-	22		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In.*
585	Predicted periplasmic/secreted protein	*BC*	A0A0H3KLE0	-	26		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In.*
586	Predicted phosphoribosyltransferase	*CT*	Q0K973	-	21		Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Transferase	*Ex.*
587	Probable AcnD-accessory protein	*BC*	A0A0H3KTW9	-	41	*Propanoate metabol*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Isomerase	*In.*
						Metabolic pathways				
588	Probable cytosol aminopeptidase	*CT*	Q0K7F5	3.4.11.1	54	*Glutathione metabol*	Peptidases e inibidores	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
		BC	A9AHG9		53	*Metabolic pathways*				
589	Probable electron	*AB*	P94132	1.5.5.1	63		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
590	Probable extra-	*CT*	Q0KE31	-	34		Proc. de Info.	Membrana	Receptor	*In./Ex.*
591	Probable FAD-binding monooxygenase AlmA	*AB*	Q6F7T9	1.14.13.-	56	*Aminobenzoate degr*	Degradação de Ácidos graxos	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Mic.metab. in diverse				
592	Probable potassium transport system protein kup 3	*CT*	Q7WXK8	-	69		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
593	Probable transcriptional regulatory protein ACIAD2052	*AB*	Q6FAP5	-	27		Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
594	Proline--tRNA ligase	*CT*	Q0K6Q0	6.1.1.15	63	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AI56		64					
		AB	Q6FE23		63					
595	Propionyl-CoA carboxylase beta chain	*BC*	A0A0H3KWX5	6.4.1.4	57		Metab. de Aminoácidos	Indefinido	ligase	*In./Ex.*
596	Protease associated ATPase	*BC*	A0A0H3KGF1	-	96	*Bacterial secretion sy*	Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
597	Protease HtpX	*AB*	Q6F8Q1	-	33		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
598	Protein RecA	*CT*	Q0KE78	-	38	*Homologous recomb*	Recombinação e Reparo de DNA	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		BC	A9AFT0		37					
		AB	P42438		38					
599	Protein translocase subunit SecA	*CT*	Q0K6N3	7.4.2.8	105	*Quorum sensing*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
		BC	A9AI87		105	*Protein export*				
		AB	Q6FEE0		103	*Bacterial secretion sy*				
600	Protein translocase subunit SecD	*AB*	Q6FEJ6	-	69	*Protein export*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
						Bacterial secretion sy				
601	Protein translocase subunit SecY	*AB*	Q6F7T2	-	49	*Quorum sensing*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Protein export				
						Bacterial secretion sy				
602	Protein-export membrane protein SecF	*BC*	A0A0H3KKS1	-	35	*Protein export*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
						Bacterial secretion sy				

603	Protein-export protein SecB	*BC*	A9AEK0	-	18	*Quorum sensing* *Protein export* *Bacterial secretion sy*	Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Chaperona	*In./Ex.*
604	Pseudouridine synthase	*AB*	Q6FDU7	5.4.99.22	36		Metabolismo de RNA	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
605	PTS system N-acetylglucosamine-	*BC*	A0A0H3KHQ2	-	62	*Amino sugar and nuc* *Phosphotransferase*	Metab. de Carbo.	Membrana plasmática	Transferase	*In./Ex.*
606	Putative 2-nitropropane dioxygenase	*CT*	Q7WWU7	-	35		Resp. Estresse	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
607	Putative 3-hydroxybutyryl-CoA epimerase	*AB*	Q6F8B7	1.1.1.35 4.2.1.17 5.1.2.3	77	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *Geraniol degradation* *Lysine degradation* *Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *beta-Alanine metabo* *Propanoate metaboli* *Butanoate metabolis* *Limonene and pinene* *Caprolactam degrad* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
608	Putative 4-hydroxy-4-methyl-2-oxoglutarate aldolase	*AB*	Q6FCF4	-	18		Metabolismo de RNA	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
609	Putative ABC transport system auxiliary component	*BC*	A0A0H3KHY4	-	24	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
610	Putative ABC transport system permease protein	*BC*	A0A0H3KRW1	-	27	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
611	Putative ABC transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KHR0	-	33		Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
612	Putative acetyl-CoA acetyltransferase (Acetoacetyl-CoA thiolase)	*AB*	Q6FEA0	2.3.1.9	41	*Fatty acid degradatio* *Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Lysine degradation* *Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *Pyruvate metabolism* *Glyoxylate metabolis* *Propanoate metaboli* *Butanoate metabolis* *Terpenoid backbone* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr* *Two-component syst*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
613	Putative acetyl-coA synthetase/AMP-(Fatty) acid ligase	*AB*	Q6FBV6	6.2.1.1	61	*Glycolysis / Gluconeo* *Pyruvate metabolism* *Glyoxylate metabolis* *Propanoate metaboli* *Methane metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
614	Putative acyl coenzyme A dehydrogenase (HcaD-like)	*AB*	Q6FA91	1.3.8.8	42	*Fatty acid degradatio* *Metabolic pathways* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
615	Putative acyl-CoA dehydrogenase	*AB*	Q6FCD3	-	48		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*

616	Putative acyl-CoA dehydrogenase	*AB*	Q6FBV5	1.3.8.1	41	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *beta-Alanine metabo* *Propanoate metabol* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisn*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
617	Putative acyl-CoA dehydrogenase	*AB*	Q6FB48	-	46		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In.*
618	Putative acyl-CoA dehydrogenase	*AB*	Q6F7M4	-	67		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
619	Putative acyl-CoA dehydrogenase	*AB*	O31251	1.3.8.7	44	*Fatty acid degradatio* *Val., leuc. and isol. de* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolisn*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
620	Putative acyl-CoA dehydrogenase family	*BC*	A0A0H3KKX4	-	41		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
621	Putative acyl-CoA dehydrogenase family	*BC*	A0A0H3KHW0	-	65		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
622	Putative acyl-CoA dehydrogenase family	*BC*	A0A0H3KNR5	-	41		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
623	Putative acyl-CoA dehydrogenase family	*BC*	A0A0H3KW68	-	64	*Sulfur metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
624	Putative acyl-CoA thiolase	*AB*	Q6FAW1	2.3.1.9	45	*Fatty acid degradatio* *Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Lysine degradation* *Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *Pyruvate metabolism* *Glyoxylate metabolis* *Propanoate metabol* *Butanoate metabolis* *Terpenoid backbone* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisn* *Two-component syste*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
625	Putative alcohol dehydrogenase	*AB*	Q6F8H1	1.1.1.1	42	*Glycolysis / Gluconeo* *Fatty acid degradatio* *Tyrosine metabolism* *Chloroalkane and ch* *Naphthalene degrad* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Deg. aromatic compo*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
626	Putative aminotransferase	*AB*	Q6FAM4	2.6.1.17	44	*Lysine biosynthesis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
627	Putative antigen	*AB*	Q6FBS5	-	32		Indefinido	Membrana plasmática	Indefinido	*In./Ex.*
628	Putative antioxidant protein	*AB*	Q6FEE1	1.11.1.24	25		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
629	Putative ATP-dependent RNA helicase	*AB*	Q6F7N7	-	72		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*Ex.*
630	Putative ATPase	*AB*	Q6F6T3	-	47		Replicação e Reparo de	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
631	Putative bifunctional	*AB*	Q6FA39	1.1.1.40	82	*Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways*	Metab. de	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*

	protein (MaeB)	*AB*	Q6FA39	1.1.1.40	82	*Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
632	Putative biopolymer transport protein (ExbB)	*AB*	Q6FES4	-	22		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
633	Putative carbonic anhydrase	*AB*	Q6FDB4	4.2.1.1	22	*Nitrogen metabolism* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
634	Putative cold shock protein	*AB*	Q6FCM6	-	8		Regulação/Processamento	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
635	Putative DNA binding protein	*AB*	Q6FFA4	-	13		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
636	Putative efflux transporter causing drug	*AB*	Q6F6Q9	-	116	*Multidrug resistance,*	Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
637	Putative enoyl-CoA hydratase/isomerase	*AB*	Q6F9Y3	4.2.1.17	42		Indefinido	Mitocondria	Liase; Isomerase	*In./Ex.*
638	Putative enoyl-CoA hydratase/isomerase	*AB*	Q6FBV3	4.2.1.17	39		Indefinido	Mitocondria	Indefinido	*In.*
639	Putative enzyme contains P-loop containing	*AB*	Q6F7Q8	-	56		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
640	Putative FAD/FMN-containing	*AB*	Q6F7J1	-	52		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
641	Putative ferric siderophore receptor	*AB*	Q6FEQ0	-	80		Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
642	Putative ferrous iron transport protein B	*AB*	Q6FFC4	-	67		Sinalização e Processo	Indefinido	Transporte	*In./Ex.*
643	Putative FMN Oxidorredutase	*AB*	Q6FD34	-	45		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
644	Putative glutamine amidotransferase	*BC*	A0A0H3KCU3	-	40		Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
645	Putative glycosyltransferase	*AB*	Q6FEU6	-	42		Indefinido	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
646	Putative GTPase (G3E family)	*CT*	Q0KF74	-	41		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*Ex.*
647	Putative histone-like nucleoid-structuring	*BC*	A0A0H3KS87	-	11		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
648	Putative homoserine kinase (ThrH)	*AB*	Q6FDX3	3.1.3.3 2.7.1.39	23	*Glycine, serine and th* *Methane metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase; Hidrolase	*In./Ex.*
649	Putative Lactaldehyde dehydrogenase	*CT*	Q0KAF1	1.2.1.22	50		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
650	Putative lipopolysaccharide	*AB*	Q6FC66	-	28	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
651	Putative lipoprotein	*BC*	A0A0H3KG38	-	23		Indefinido	Membrana externa da	Indefinido	*In./Ex.*
652	Putative lipoprotein	*BC*	A0A0H3KBU8	-	22		Indefinido	Membrana externa da	Indefinido	*In./Ex.*
653	Putative lipoprotein	*BC*	A0A0H3KP94	-	20		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
654	Putative lipoprotein	*BC*	A0A0H3KJR7	-	20		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
655	Putative long-chain fatty acid transport protein	*AB*	Q6FDX2	-	52		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
656	Putative MarR-family transcriptional regulator	*BC*	A0A0H3KIP9	-	23		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
657	Putative membrane fusion protein (AdeA-like)	*AB*	Q6F8F7	-	45	*beta-Lactam resistan* *Cationic antimicrobia*	Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
658	Putative membrane protease	*BC*	A0A0H3KPI8	-	34		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
659	Putative membrane-anchored cell surface	*BC*	A0A0H3KWV9	-	233		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In./Ex.*
660	Putative metalloprotease	*AB*	Q6FCJ0	-	110		Peptidases e inibidores	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
661	Putative methyl-cis-aconitic acid hydratase	*AB*	Q6F8W5	4.2.1.117	96	*Propanoate metabol*	Metab. de	Indefinido	Liase	*In./Ex.*

	aconitic acid hydratase (AcnM)	*AB*	Q6F8W5		96	*Metabolic pathways*	Carbo.	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
662	Putative nucleotide phosphoribosyltransfera	*BC*	A0A0H3KNY1	-	23		Metabolismo de	Indefinido	Transferase	*Ex.*
663	Putative OmpA family transmembrane protein	*BC*	A0A0H3KLA6	-	21		Indefinido	Membrana externa da	Indefinido	*Ex.*
664	Putative outer membrane protein	*AB*	Q6FDR2	-	23		Indefinido	Membrana externa da	Indefinido	*In./Ex.*
665	Putative outer membrane protein	*AB*	Q6F788	-	53		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In.*
666	Putative Outer membrane protein (OmpA-like)	*AB*	Q6FE98	-	39		Sinalização e Processo	Membrana externa da	Transporte	*In./Ex.*
667	Putative Oxidorredutase (Short chain	*AB*	Q6FB51	-	27		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
668	Putative Oxidorredutase/dehydrog	*AB*	Q6F8F2	-	30		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
669	Putative oxoacyl-(Acyl carrier protein) reductase	*AB*	Q6FFY3	1.1.1.100	27		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
670	Putative penicillin binding protein	*AB*	Q9AM64	2.4.1.129 3.4.16.4	95	*Peptidoglycan biosyr* *Metabolic pathways* *beta-Lactam resistan*	Biossíntese de Peptidoglican o	Membrana plasmática	Transferase	*In./Ex.*
671	Putative peptidase, S33 family	*CT*	Q0KBF2	-	35		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*Ex.*
672	Putative periplasmic cytochrome c-containing	*BC*	A0A0H3KHD6	-	47		Indefinido	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
673	Putative phosphoenolpyruvate	*AB*	Q6F9R8	2.7.4.28	31		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
674	Putative PLP-dependent aminotransferase	*AB*	Q6FAL7	2.6.1.66 2.6.1.2	54	*Arginine biosynthesis* *Alanine, aspartate ar* *Val., leuc. and isol. bi* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *2-Oxocarboxylic acid* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
675	Putative protease	*AB*	Q6FCY8	-	105		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In.*
676	Putative protease	*AB*	Q9EYL9	-	37		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In.*
677	Putative protease (SohB)	*AB*	Q6FCW6	-	36		Peptidases e inibidores	Membrana plasmática	Hidrolase	*In./Ex.*
678	Putative regulatory protein (Nitrile hydratase	*AB*	Q6FBI1	-	45		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
679	Putative response regulator (Activator) in	*AB*	Q6FE74	-	27	*Two-component syst*	Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
680	Putative RND efflux transporter	*AB*	Q6FD22	-	113	*Two-component syst*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
681	Putative RND type efflux pump involved in	*AB*	Q6FG14	-	37		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
682	Putative short-chain alcohol dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KH95	-	27		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
683	Putative short-chain dehydrogenase	*AB*	Q6FBI9	-	30		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
684	Putative short-chain dehydrogenase	*AB*	Q6FAW2	1.1.1.100	49	*Fatty acid biosynthes* *Biotin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Fatty acid metabolisr*	Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
685	Putative siderophore-interacting protein	*BC*	A0A0H3KIL3	-	30		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
686	Putative sigma54 modulation protein	*BC*	A0A0H3KHM4	-	14		Metabolismo de RNA	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
687	Putative signal transduction response	*BC*	A0A0H3KPU0	-	24		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
688	Putative signal-transduction protein	*BC*	A0A0H3KEG0	-	17		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
						Fatty acid degradatio *Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de*				

689	Putative thiolase putative acyl-CoA thiolase	*AB*	Q6F8B8	2.3.1.9	42	*Lysine degradation* *Benzoate degradatio* *Tryptophan metaboli* *Pyruvate metabolism* *Glyoxylate metabolis* *Propanoate metabol* *Butanoate metabolis* *Terpenoid backbone* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr* *Two-component syst*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
690	Putative thioredoxin	*BC*	A0A0H3KH62	-	31		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Chaperona	*In./Ex.*
691	Putative toluene tolerance protein (Ttg2D)	*AB*	Q6F7P1	-	23	*ABC transporters*	Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
692	Putative transcriptional regulator	*AB*	Q6FD91	-	38		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
693	Putative transcriptional regulator (AraC family)	*AB*	Q6FEV3	-	38		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
694	Putative transcriptional regulator (AraC family)	*AB*	Q6F8C0	-	40		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
695	Putative transcriptional regulator (GntR-family)	*AB*	Q6FDW3	-	27		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
696	Putative transcriptional regulator (LysR family)	*AB*	Q6FE56	-	33		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
697	Putative transcriptional regulator (PcaU-like)	*AB*	Q6FDI1	-	31		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
698	Putative transcriptional regulator (TetR family)	*AB*	Q6F8T3	-	23		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
699	Putative transport protein (ABC superfamily,	*AB*	Q6F7C1	-	62		Reg./Proces. da Tradução	Indefinido	Transporte	*In./Ex.*
700	Putative transposase	*BC*	A0A0H3KIH5	-	27		Indefinido	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
701	Putative two-component response regulator	*AB*	Q6F747	-	24		Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
702	Putative very-long-chain acyl-CoA synthetase	*AB*	Q6FEY1	-	69	*Geraniol degradation*	Metabolismo de Ácidos	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
703	Putative Zn-dependent Oxidorredutase	*CT*	Q0KCT3	1.6.5.5	35		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
704	Putrescine-binding periplasmic protein	*BC*	A0A0H3KF61	-	40	*ABC transporters*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
705	Pyridine nucleotide transhydrogenase	*AB*	Q6F836	1.6.1.2 7.1.1.1	40	*Nicotinate and nicoti* *Metabolic pathways*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Oxidorredutase ; Translocase	*In./Ex.*
706	Pyrimidine operon attenuation protein /	*BC*	A0A0H3KHB8	2.4.2.9	18	*Pyrimidine metabolis* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
707	Pyrimidine/purine nucleoside phosphorylase	*AB*	Q6FF51	2.4.2.2 2.4.2.1	12	*Purine metabolism* *Pyrimidine metabolis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
708	Pyrroline-5-carboxylate reductase	*AB*	Q6F881	1.5.1.2	29	*Arginine and proline* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
709	Pyruvate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KSS9	-	61		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
710	Pyruvate dehydrogenase E1 component	*CT* *CT* *BC* *AB*	Q59097 Q0KAV1 A0A0H3KKQ4 Q6F712	1.2.4.1	100 99 101 102	*Glycolysis / Gluconeo* *Citrate cycle (TCA cyc* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
711	Pyruvate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KJY7	1.2.4.1	35		Glicolise /	Mitocondria	Oxidorredutase	*Ex.*
712	Pyruvate dehydrogenase	*BC*	A0A0H3KF52	1.2.4.1	36		Glicolise /	Mitocondria	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Glycolysis / Gluconeo *Citrate cycle (TCA cyc*				

713	Pyruvate dehydrogenase E2 component	*BC*	A0A0H3KFB8	2.3.1.12	39	*Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Glicolise / Gliconeogênese	Mitocondria	Transferase	*In./Ex.*
714	Pyruvate kinase	*BC*	A0A0H3KH27	2.7.1.40	51	*Glycolysis / Gluconeo* *Purine metabolism* *Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Glicolise / Gliconeogênese	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
715	NAD-dependent protein	*CT*	Q0JY52	2.3.1.286	31		Indefinido	Citoplasma	Transferase	*Ex.*
716	Methyltransf_21 domain-	*CT*	Q0K7P3	-	44		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*Ex.*
717	Putative bifunctional protein (MaeB)	*AB*	Q6FA39	1.1.1.40	82	*Pyruvate metabolism* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In.*
718	ATP-dependent helicase	*AB*	Q6FAK3	3.6.1.15	148		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
719	Putative ferric	*AB*	Q6FAM2	-	80		Indefinido	Membrana	Transporte	*In./Ex.*
720	Benzaldehyde dehydrogenase II	*AB*	Q6FCB6	1.2.1.28	55	*Xylene degradation* *Toluene degradation* *Aminobenzoate degr* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Deg. aromatic compo*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
721	Quinolinate synthase A	*AB*	Q6FED7	2.5.1.72	39	*Nicotinate and nicoti* *Metabolic pathways*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
722	Regulatory protein, P-II 2,	*AB*	Q6FFE7	-	12		Regulação/Pro	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
723	Repressor of the iscRSUA	*AB*	Q6FCE1	-	16		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
724	Response regulator	*AB*	Q6FFD1	-	23		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
725	Response regulator	*CT*	Q0K6Q9	-	60	*Two-component syst*	Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*Ex.*
726	Response regulator, NarL-	*CT*	Q0KBW3	-	23		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
727	Response regulator,	*CT*	Q0KBM3	-	27	*Two-component syst*	Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*Ex.*
728	Rhodanese domain-	*AB*	Q6F803	-	16		Indefinido	Membrana	Indefinido	*In./Ex.*
729	Riboflavin biosynthesis protein	*AB*	Q6FG01	2.7.1.26 2.7.7.2	38	*Riboflavin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
730	Riboflavin synthase alpha chain	*AB*	Q6FFE2	2.5.1.9	24	*Riboflavin metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
731	Ribonuclease E	*CT* *BC* *AB*	Q0K8K8 A0A0H3KI46 Q6FEY0	3.1.26.12	112 114 127	*RNA degradation*	Metabolismo de RNA	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
732	Ribonuclease G	*BC*	A0A0H3KGU2	-	55		Metabolismo	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
733	Ribonuclease G,	*AB*	Q6FDX7	-	56		Metabolismo	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
734	Ribonuclease PH	*AB*	Q6FFX5	2.7.7.56	26		Metabolismo	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
735	Ribonuclease R	*BC* *AB*	A0A0H3KEG8 Q6F7U9	3.1.13.1	91 93	*RNA degradation*	Metabolismo de RNA	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
736	Ribonucleoside-diphosphate reductase	*CT* *BC* *AB*	Q0K6R1 A0A0H3KBS4 Q6FE75	1.17.4.1	108 110 105	*Purine metabolism* *Pyrimidine metaboli* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Nucleotídeos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
737	Ribose-5-phosphate isomerase A	*BC* *AB*	A0A0H3KNB3 Q6FCI6	5.3.1.6	24 24	*Pentose phosphate p* *Carbon fixation in ph* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
738	Ribose-phosphate pyrophosphokinase	*BC* *AB*	A0A0H3KHG5 Q6F8I9	2.7.6.1	34 34	*Pentose phosphate p* *Purine metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*

						Biosynthesis of amin				
739	Ribosomal protein S12	*AB*	Q6FCH4	2.8.4.4	50		Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
740	Ribosomal RNA large	*AB*	Q6F8N1	2.1.1.166	24		Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
741	Ribosomal RNA large	*AB*	Q6F7X5	2.1.1.166	33		Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
742	Ribosomal RNA large	*AB*	Q6FCR7	2.1.1.173	84		Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
743	Ribosomal RNA small	*AB*	Q6FA41	2.1.1.193	27		Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
744	Ribosome-binding ATPase YchF	*CT*	Q0K6G9	-	39		Metabolismo de RNA	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KBM		39					
		AB	Q6FAN1		40					
745	Ribosome-binding factor	*AB*	Q6FF39	-	15		Metabolismo	Citoplasma	Indefinido	*In./Ex.*
746	Ribosome-recycling factor	*BC*	A9AIL7	-	21		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elong	*In./Ex.*
		AB	Q6FCH2		21					
747	Ribulose-phosphate 3-epimerase	*AB*	Q6FEA8	5.1.3.1	25	*Pentose phosphate p* *Pentose and glucuro* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
748	RNA polymerase sigma factor RpoD	*CT*	Q0K867	-	91		Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KK14		89					
		AB	Q6F8H5		72					
749	RNA polymerase-	*AB*	Q6FCX8	-	109		Regulação/Pro	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
750	RNA polymerase-binding transcription factor DksA	*CT*	Q0KF75	-	25		Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFT8		16					
		AB	Q6FFB9		20					
751	RNA-binding protein Hfq	*CT*	Q0K967	-	9	*Quorum sensing*	Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		BC	A9AH01		9	*RNA degradation*				
752	RNA-binding protein Hfq	*BC*	A0A0H3KEL1	-	21	*Quorum sensing*	Regulação/Processamento	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		AB	Q6F9W2		17	*RNA degradation*				
753	RND efflux system outer	*BC*	A0A0H3KJ81	-	53		Sinalização e	Membrana	Transporte	*In./Ex.*
754	RND efflux system outer membrane lipoprotein	*BC*	A0A0H3KLS6	-	54	*beta-Lactam resistan* *Quorum sensing*	Sinalização e Processo	Membrana plasmática	Transporte	*In./Ex.*
755	Rod shape-determining protein	*BC*	A0A0H3KJP2	-	37		Sinalização e Processo	Citoesqueleto		*In./Ex.*
		AB	Q6FDY1		37					
756	Rod shape-determining	*CT*	Q0KFF6	-	37		Sinalização e	Citoesquelet		*In./Ex.*
757	Rubredoxin-NAD(+)	*AB*	P42454	1.18.1.1	42	*Fatty acid degradatio*	Degradação de	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
758	S-adenosylmethionine synthase	*CT*	Q0KF39	2.5.1.6	42	*Cysteine and methior*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KJR4		43	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FAQ6		42	*Bios. second. metabo*				
						Biosynthesis of amin				
759	S1 motif domain-	*AB*	Q6F7B6	-	88		Indefinido	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
760	Sarcosine oxidase	*BC*	A0A0H3KBA1	1.5.3.1	39		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
761	SCP2 domain-containing	*AB*	Q6F8Q4	-	14		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
762	Sec translocon accessory complex subunit YajC	*BC*	A0A0H3KC33	-	11	*Quorum sensing* *Protein export* *Bacterial secretion sy*	Proc. de Info. Ambiental	Membrana plasmática	Transporte	*Ex.*
763	Septum site-determining protein	*BC*	A0A0H3KD05	-	30		Sinalização e Processo	Citoesqueleto	Indefinido	*Ex.*
764	Serine hydroxymethyltransferase	*CT*	Q0K7W0	2.1.2.1	45	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KH43		45	*Cyanoamino acid me*				
		AB	Q6FA66		45	*Glyoxylate metabolis*				
						One carbon pool by f				
						Methane metabolism				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
765	Serine O-acetyltransferase	*BC*	A0A0H3KIM6	2.3.1.30	33	*Cysteine and methior* *Sulfur metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Biosynthesis of amin*	Metabolismo Energético	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*

766	Serine protein kinase	*CT*	Q0K3C7	-	73		Indefinido	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KF64		73					
767	Serine--tRNA ligase	*AB*	Q6F8G5	6.1.1.11	47	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
768	Serine-glyoxylate	*BC*	A0A0H3KT02	2.6.1.45	41		Indefinido	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
769	Short chain	*CT*	Q0KBF8	1.1.1.69	27		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
770	Short-chain alcohol	*CT*	Q0K3B4	-	27		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
771	Short-chain alcohol	*CT*	Q0KE21	-	26		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
772	Short-chain	*CT*	Q0K3E0	-	32		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
773	Sigma54-dependent DNA-	*BC*	A0A0H3KZE6	-	50		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
774	Signal peptidase I	*AB*	Q6F9C0	3.4.21.89	32	*Protein export*	Peptidases e	Membrana	Hidrolase	*In./Ex.*
775	Signal recognition particle protein	*CT*	Q0K6Q5	3.6.5.4	50	*Quorum sensing*	Sinalização e Processo Celular	Citoplasma	Transporte	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KGM		49	*Protein export*				
		AB	Q6FDW8		51	*Bacterial secretion sy*				
776	Signal recognition particle receptor FtsY	*AB*	Q6FA31	-	40	*Quorum sensing*	Sinalização e Processo Celular	Membrana plasmática	Receptor	*In./Ex.*
						Protein export				
						Bacterial secretion sy				
777	Signal transduction	*BC*	A0A0H3KEJ5	-	27		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
778	Signal transduction	*BC*	A0A0H3KIP5	-	26		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
779	Single-stranded DNA-binding protein	*BC*	A0A0H3KHE7	-	19	*DNA replication*	Recombinação e Reparo de DNA	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		AB	Q6F764		21	*Mismatch repair*				
						Homologous recomb				
780	Small ribosomal subunit biogenesis GTPase RsgA	*AB*	Q6F804	3.1.3.100	39	*Thiamine metabolism*	Metabolismo de RNA	Citoplasma	Hidrolase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
781	Soluble pyridine nucleotide	*AB*	Q6FA50	1.6.1.1	53	*Nicotinate and nicoti*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
782	Spermidine/putrescine	*BC*	A0A0H3KQ21	-	38	*Quorum sensing*	Sinalização e	Indefinido	Transporte	*Ex.*
783	Stress-induced protein	*CT*	Q0KD24	-	35		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
784	Stringent starvation protein A (Glutathione S-	*BC*	A0A0H3KI15	-	24		Sinalização e Processo	Indefinido	Transporte	*In./Ex.*
		CT	Q0K6A8		24					
785	Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit	*CT*	Q0K8F9	1.3.5.1	65	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KQ35	1.3.5.4	65	*Oxidative phosphory*				
		AB	Q6F8K9		70	*Butanoate metabolis*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
786	Succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit	*CT*	Q0K8G0	1.3.5.1	27	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Membrana plasmática	Oxidorredutase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KV32	1.3.5.4	27	*Oxidative phosphory*				
		AB	Q6F8L0		27	*Butanoate metabolis*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
787	Succinate dehydrogenase, cytochrome b556 subunit	*AB*	Q6F8K7	-	14	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Membrana plasmática	Indefinido	*In./Ex.*
						Oxidative phosphory				
						Butanoate metabolis				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
788	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha	*CT*	Q0KE74	6.2.1.5	31	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KH54		31	*Propanoate metabol*				
		AB	Q6F8L5		31	*C5-Branched dibasic*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
789	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit beta	*CT*	Q0KE75	6.2.1.5	41	*Citrate cycle (TCA cyc*	Ciclo do Ácido Tricarboxílico	Indefinido	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A9AFT3		41	*Propanoate metabol*				
		AB	Q6F8L4		41	*C5-Branched dibasic*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Alanine, aspartate ar				
						Lysine degradation				

790	Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NADP+)	*CT*	Q0K100	1.2.1.16	52	*Tyrosine metabolism* *Butanoate metabolis* *Nicotinate and nicoti* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
791	Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NADP+)	*CT*	Q0JZI5	1.2.1.16	52	*Alanine, aspartate ar* *Lysine degradation* *Tyrosine metabolism* *Butanoate metabolis* *Nicotinate and nicoti* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*Ex.*
792	Succinyl-CoA:3-ketoacid-coenzyme A transferase subunit A	*CT*	Q0KC00	2.8.3.5	25	*Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
793	Succinyl-CoA:3-ketoacid-coenzyme A transferase subunit B	*CT*	Q0KBZ9	2.8.3.5	22	*Synthesis/deg. ketone* *Val., leuc. and isol. de* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Transferase	*Ex.*
794	Sulfate adenylyltransferase subunit 1	*CT* *BC* *AB*	Q0K7F0 A0A0H3KLG8 Q6FD99	2.7.7.4	47 47 59	*Purine metabolism* *Monobactam biosyn* *Selenocompound me* *Sulfur metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Metabolismo Energético	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
795	Sulfate adenylyltransferase subunit 2	*AB*	Q6FDA0	2.7.7.4	35	*Purine metabolism* *Monobactam biosyn* *Selenocompound me* *Sulfur metabolism* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Metabolismo Energético	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
796	Sulfate-transporting	*BC*	A0A0H3KGI4	7.3.2.3	62		Reg./Proces.	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
797	Sulfite reductase	*AB*	Q6F8C4	1.8.1.2	62	*Sulfur metabolism* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse*	Metabolismo Energético	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
798	Sulfonate/nitrate/taurine	*BC*	A0A0H3KS65	-	50		Sinalização e	Indefinido	Transporte	*In./Ex.*
799	Sulfurtransferase	*BC*	A0A0H3KKL5	2.8.1.1	31		Metabolismo	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
800	Sun protein	*BC*	A0A0H3KGT5	2.1.1.176	46		Metabolismo	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
801	Superoxide dismutase	*CT* *BC* *AB*	Q0KE13 A0A0H3KH36 Q6FCJ6	1.15.1.1	22 21 23		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
802	Tellurium resistance	*AB*	Q6FAY2	-	20		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
803	TetR family	*BC*	A0A0H3KG76	-	29		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
804	TetR family	*BC*	A0A0H3KGW3	-	24		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
805	TetR family	*BC*	A0A0H3KRA1	-	23		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
806	TetR family	*BC*	A0A0H3KIL9	-	23		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
807	Thiol peroxidase	*BC*	A0A0H3KGN4	1.11.1.24	17		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
808	Thioredoxin	*CT* *BC*	Q0K932 A0A0H3KJX6	-	12 12		Bios./Metab. Proteínas	Indefinido	Chaperona	*In./Ex.*
809	Thioredoxin reductase	*BC* *AB*	A0A0H3KD00 Q6FDS0	1.8.1.9	34 34	*Selenocompound me*	Metab. de Aminoácidos	Citoplasma	Oxidorredutase	*In./Ex.*
810	Threonine synthase	*AB*	Q6FFC9	4.2.3.1	40	*Glycine, serine and th* *Vitamin B6 metabolis* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
811	Threonine--tRNA ligase	*BC* *AB*	A9ABF9 Q6F860	6.1.1.3	72 73	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
812	Thymidylate synthase	*AB*	Q6FER7	2.1.1.45	32	*Pyrimidine metabolis* *One carbon pool by f* *Metabolic pathways*	Metabolismo de Nucleotídeos	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
813	Tim44 domain-containing	*AB*	Q6F945	-	36		Indefinido	Membrana	Indefinido	*In./Ex.*

814	TldD protein	*BC*	A0A0H3KKU2	-	51		Peptidases e	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
185	Tol-Pal system protein	*BC*	A9AFQ0	-	46		Sinalização e	Membrana	Transporte	*In./Ex.*
816	Tol-Pal system protein	*BC*	A0A0H3KL03	-	25		Sinalização e	Membrana	Transporte	*In./Ex.*
817	Toluene tolerance efflux	*AB*	Q6F7P0	-	24	*ABC transporters*	Proc. de Info.	Membrana	Transporte	*In./Ex.*
818	Transaldolase	*CT*	Q0K979	2.2.1.1	35	*Pentose phosphate p*	Metab. de Carbo.	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		BC	A9AIJ8		35	*Metabolic pathways*				
		AB	Q6FAV8		36	*Bios. second. metabo*				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
819	Transcription accessory	*BC*	A0A0H3KJU5	-	85		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
820	Transcription	*AB*	Q6F6V2	-	17		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
821	Transcription elongation	*AB*	Q6F8M5	-	18		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
822	Transcription termination factor Rho	*CT*	Q0K931	-	46	*RNA degradation*	Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KFL5		47					
		AB	Q6F876		48					
823	Transcription termination/antiterminati on protein NusA	*CT*	Q0K9B8	-	55		Regulação/Processamento da Transcrição	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KET8		55					
		AB	Q6FF41		55					
824	Transcription termination/antiterminati on protein NusG	*CT*	Q0K601	-	22		Regulação/Processamento da Transcrição	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KIK8		21					
		AB	Q6FF95		20					
825	Transcriptional accessory	*CT*	Q0KBQ7	-	85		Indefinido	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
826	Transcriptional regulator	*CT*	Q0K224	-	21		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*Ex.*
827	Transcriptional regulator	*AB*	Q6FEG0	3.1.1.61	27	*Two-component syst*	Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
828	Transcriptional regulator,	*CT*	Q0JZU3	-	26		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
829	Transcriptional regulator,	*CT*	Q0KBU6	-	30		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
830	Transcriptional regulator,	*CT*	Q0K702	-	37	*Two-component syst*	Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*Ex.*
831	Transcriptional repressor	*AB*	Q6FFE5	-	19		Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
832	Transketolase	*BC*	A0A0H3KC72	2.2.1.1	74	*Pentose phosphate p*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FAQ7		72	*Carbon fixation in ph*				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
833	Translation initiation	*AB*	Q6FEV4	-	9		Bios./Metab.	Citoplasma	Ligação ao	*In./Ex.*
834	Translation initiation factor IF-2	*CT*	Q0K9B9	-	104		Bios./Metab. Proteínas	Citoplasma	Fator de Tradução/Elongação	*In./Ex.*
		BC	A9ABD5		104					
		AB	Q6FF40		98					
835	Translation initiation	*AB*	Q6F861	-	21		Bios./Metab.	Citoplasma	Fator de	*In./Ex.*
836	TRAP-type transporter,	*CT*	Q0K5H6	-	42		Indefinido	Membrana	Transporte	*Ex.*
837	Triacylglycerol lipase	*BC*	A0A0H3KKZ3	3.1.1.3	38	*Glycerolipid metaboli*	Metabolismo de Ácidos	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
						Metabolic pathways				
838	Trigger factor	*CT*	Q0KBK5	5.2.1.8	51		Sinalização e Processo Celular	Citoplasma	Isomerase	*In./Ex.*
		BC	A9AJQ9		50					
		AB	Q6FEP9		50					
839	Triosephosphate isomerase	*BC*	A0A0H3KGB6	5.3.1.1	26	*Glycolysis / Gluconeo*	Glicolise / Gliconeogênese	Citoplasma	Isomerase	*In.*
						Fructose and manno				
						Inositol phosphate m				
						Carbon fixation in ph				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Mic.metab. in diverse				
						Carbon metabolism				
						Biosynthesis of amin				
840	tRNA N6-adenosine	*AB*	Q6FCK9	2.3.1.234	37		Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In.*
841	tRNA-specific 2-	*AB*	Q6FCW2	2.8.1.13	42	*Sulfur relay system*	Metabolismo	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
842	Tryptophan synthase alpha chain	*AB*	Q6FEE6	4.2.1.20	29	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
						Phenylalanine, tyrosi				
						Metabolic pathways				
						Bios. second. metabo				
						Biosynthesis of amin				
843	Tryptophan synthase beta chain	*CT*	Q0K8H5	4.2.1.20	43	*Glycine, serine and th*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KQ52		43	*Phenylalanine, tyrosi*				
		AB	Q6FEF1		44	*Metabolic pathways*				

	beta chain					*Bios. second. metabo*	Aminoácidos			
						Biosynthesis of amin				
844	Tryptophanyl-tRNA	*AB*	Q6F8L6	6.1.1.2	38	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
845	Two domain protein: 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	*CT*	Q0KEG0	1.1.1.35	86	*Fatty acid degradatio* *Benzoate degradatio* *Butanoate metabolis* *Metabolic pathways* *Mic.metab. in diverse* *Carbon metabolism* *Fatty acid metabolisr*	Degradação de Ácidos graxos e Xenobióticos	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
846	Two-component	*AB*	Q6F7B5	-	29	*Two-component syst*	Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
847	Two-component system	*BC*	A0A0H3KFN4	-	27	*Two-component syst*	Regulação/Pro	Indefinido	Ligação ao	*In./Ex.*
848	Tyrosine aminotransferase	*CT*	Q0K2A2	2.6.1.57	44	*Cysteine and methior* *Tyrosine metabolism* *Phenylalanine metab* *Phenylalanine, tyrosi* *Novobiocin biosynth* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Biosynthesis of amin*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
849	Tyrosine--tRNA ligase	*CT*	Q0KED1	6.1.1.1	46	*Aminoacyl-tRNA bios*	Biossíntese de Aminoacil-tRNA	Citoplasma	Ligase	*In./Ex.*
		BC	A0A0H3KGX1		46					
		AB	Q6FG10		45					
850	Ubiquinol oxidase subunit 2	*AB*	Q6F9R5	7.1.1.3	39	*Oxidative phosphory* *Metabolic pathways*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Translocase	*In./Ex.*
851	Ubiquinol-cytochrome c reductase cytochrome c1 subunit	*BC*	A0A0H3KHW7	-	28	*Oxidative phosphory* *Metabolic pathways* *Two-component syst*	Metabolismo Energético	Membrana plasmática	Indefinido	*In./Ex.*
852	Ubiquinone/menaquinone biosynthesis C-methyltransferase UbiE	*CT*	Q0KEH6	2.1.1.163	27	*Ubiquinone and othe*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FF27		36	*Metabolic pathways*				
						Bios. second. metabo				
853	UDP-glucose 4-epimerase	*BC*	A0A0H3KFE1	5.1.3.2	40		Indefinido	Indefinido	Isomerase	*Ex.*
854	UDP-glucose 6-dehydrogenase	*AB*	Q6FFS9	1.1.1.22	48	*Pentose and glucuro* *Ascorbate and aldar* *Amino sugar and nuc* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
855	UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase	*BC*	A0A0H3KHX9	2.5.1.7	48	*Amino sugar and nuc*	Biossíntese de Peptidoglicano	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	Q6FED0		45	*Peptidoglycan biosyr*				
						Metabolic pathways				
856	UDP-N-acetylmuramate--L-alanine ligase	*BC*	A9AI95	6.3.2.8	49	*D-Glutamine and D-g* *Peptidoglycan biosyr* *Metabolic pathways*	Biossíntese de Peptidoglicano	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
857	UDP-N-acetylmuramate--	*AB*	Q6F6M5	6.3.2.45	49		Biossíntese de	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
858	Methylaconitate isomerase	*CT*	Q0KAG2	-	41	*Propanoate metabol* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Isomerase	*In./Ex.*
859	Type VI secretion system	*BC*	A0A0H3KBS2	-	50		Sinalização e	Indefinido	Sistema de	*Ex.*
860	Type VI secretion system	*BC*	A0A0H3KBG8	-	19		Sinalização e	Indefinido	Sistema de	*In./Ex.*
861	Type VI secretion system	*BC*	A0A0H3KGE8	-	55		Sinalização e	Indefinido	Sistema de	*In./Ex.*
862	Type VI secretion system	*BC*	A0A0H3KBS7	-	18	*Bacterial secretion sy*	Sinalização e	Indefinido	Sistema de	*Ex.*
863	Type VI secretion system	*BC*	A0A0H3KGG4	-	36		Sinalização e	Indefinido	Sistema de	*In.*
864	Putative protein secretion	*AB*	Q6FC64	-	80	*ABC transporters*	Proc. de Info.	Indefinido	Transporte	*Ex.*
865	Type VI secretion system	*AB*	Q6F921	-	56		Sinalização e	Membrana	Sistema de	*In./Ex.*
866	Methylaconitate isomerase	*AB*	Q6F912	-	42	*Propanoate metabol* *Metabolic pathways*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Isomerase	*In.*
867	Universal stress protein,	*CT*	Q0K9K4	-	16		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*Ex.*
868	UPF0229 protein	*BC*	A0A0H3KNG4	-	49		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*Ex.*
869	UPF0234 protein	*AB*	Q6F7Y7	-	19		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
870	UPF0234 protein	*BC*	A9AGJ4	-	18		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In.*
871	UPF0234 protein	*CT*	Q0K786	-	18		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*Ex.*
872	UPF0246 protein	*AB*	Q6FA99	-	30		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
873	Uracil phosphoribosyltransfera	*AB*	Q6FE58	2.4.2.9	23	*Pyrimidine metabolis* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Indefinido	Transferase	*In./Ex.*
874	Uridylate kinase	*CT*	Q0KA18	2.7.4.22	25	*Pyrimidine metabolis* *Metabolic pathways*	Metabolismo de	Citoplasma	Transferase	*In./Ex.*
		AB	A0A0H3KPJ5		25					
875	Urocanate hydratase	*BC*	A0A0H3KG00	4.2.1.49	62	*Histidine metabolism* *Metabolic pathways*	Metab. de Aminoácidos	Indefinido	Liase	*In./Ex.*

876	Uroporphyrin-III C-methyltransferase	*BC*	A0A0H3KL94	2.1.1.107	69	*Porphyrin and chloro* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo* *Mic.metab. in diverse*	Metab. Cofat. e Vitaminas	Indefinido	Transferase; Liase	*Ex.*
877	Usp domain-containing	*AB*	Q6FC59	-	31		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
878	UspA family universal	*BC*	A0A0H3KLI9	-	16		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
879	UspA family universal	*BC*	A0A0H3KLJ3	-	33		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
880	UspA family universal	*BC*	A0A0H3KJ67	-	17		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*Ex.*
881	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	*CT*	Q0K840	2.7.7.9	33	*Pentose and glucuro* *Galactose metabolis* *Starch and sucrose m* *Amino sugar and nuc* *Metabolic pathways* *Bios. second. metabo*	Metab. de Carbo.	Indefinido	Transferase	*Ex.*
882	UvrABC system protein A	*AB*	Q6F758	-	107	*Nucleotide excision re*	Resp. Estresse	Citoplasma	Ligação ao	*In./Ex.*
883	UvrABC system protein B	*CT*	Q0KCH8	-	79	*Nucleotide excision re*	Resp. Estresse	Citoplasma	Ligação ao DNA/RNA	*In./Ex.*
		AB	Q6F9D2		78					
884	Valine--tRNA ligase	*BC*	A0A0H3KEJ8	6.1.1.9	107	*Aminoacyl-tRNA biosynthesis*	Biossíntese de Aminoacil-	Citoplasma	ligase	*In./Ex.*
		AB	Q6F8F0		110					
885	X-Pro aminopeptidase	*BC*	A0A0H3KCA0	3.4.11.9	51		Peptidases e inibidores	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*
886	Xenobiotic reductase	*AB*	Q6F723	-	39		Indefinido	Indefinido	Oxidorredutase	*In./Ex.*
887	YceI domain-containing protein	*AB*	Q6FAQ8	-	21		Indefinido	Indefinido	Indefinido	*In./Ex.*
888	Zinc/manganese transport system ATP-binding protein	*BC*	A0A0H3KGY0	-	32		Sinalização e Processo Celular	Indefinido	Transporte	*Ex.*
889	Zinc/manganese transport system substrate-binding protein	*BC*	A0A0H3KH82	-	33		Sinalização e Processo Celular	Indefinido	Transporte	*In./Ex.*
890	Zn-dependent Hidrolase	*CT*	Q0KFA5	-	40		Indefinido	Indefinido	Hidrolase	*In./Ex.*