

## Biodegradação de óleo diesel por *Penicillium citrinum* UCP 1183 isolado de sedimentos de mangue

Biodegradation of diesel oil by *Penicillium citrinum* UCP 1183 isolated from mangrove sediments

Biodegradación de diesel por *Penicillium citrinum* UCP 1183 aislado de sedimentos de manglar

Recebido: 17/07/2022 | Revisado: 30/07/2022 | Aceito: 02/08/2022 | Publicado: 11/08/2022

### **Everton Ricardo Carneiro Costa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4132-9350>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [everton.2020204204@unicap.br](mailto:everton.2020204204@unicap.br)

### **Adriana Ferreira de Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9527-2206>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [adriana.souza@unicap.br](mailto:adriana.souza@unicap.br)

### **Dayana Montero Rodríguez**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8954-7309>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [dayanamontero87@gmail.com](mailto:dayanamontero87@gmail.com)

### **Rafael de Souza Mendonça**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9226-1627>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [rafa.13souza@hotmail.com](mailto:rafa.13souza@hotmail.com)

### **Allem Karolyne Dino da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5136-4109>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [allemdino@gmail.com](mailto:allemdino@gmail.com)

### **Galba Maria de Campos Takaki**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0519-0849>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [galba\\_takaki@yahoo.com.br](mailto:galba_takaki@yahoo.com.br)

### **Rosileide Fontenele da Silva Andrade**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8526-554X>  
Universidade Católica de Pernambuco, Brasil  
E-mail: [rosileide.andrade@unicap.br](mailto:rosileide.andrade@unicap.br)

### **Resumo**

A biodegradação é uma tecnologia bastante eficaz que pode ser utilizada para recuperação de áreas impactadas com petroderivados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial de *Penicillium* sp. (isolado de sedimentos de mangue no estado de Pernambuco) na biodegradação de óleo diesel. A identificação da espécie foi realizada pela análise das estruturas macromorfológica e micromorfológica. O estudo de biodegradação foi realizado em meio Bushnell Haas contendo o indicador redox 2,6- diclorofenol indofenol (DCPIP) e o fungo previamente aclimatado a diferentes concentrações do óleo de motor queimado. O ensaio foi incubado em condições estáticas e na ausência de luz durante 72h e a cada 24 h foi verificada a biodegradação do petroderivado por espectrofotometria UV-Vis a 600 nm. As características do fungo indicaram que o isolado é *Penicillium citrinum*. Na etapa de aclimação, *P. citrinum* cresceu em todas as concentrações testadas do óleo de motor queimado (5, 10, 15 e 20%). Em adição, o fungo foi capaz de degradar o óleo diesel pela comprovada reação de oxidação indicada pela alteração da cor do indicador azul (forma oxidada) para incolor (forma reduzida). A análise espectrofotométrica verificou a ocorrência da biodegradação do óleo diesel, resultando no valor máximo (70%) após 72 h. O presente trabalho demonstra que o isolado de sedimentos de mangue foi identificado como *P. citrinum* e possui promissor potencial de uso em processos de biodegradação do óleo diesel em áreas impactadas.

**Palavras-chave:** Fungo filamentosos; Biorremediação; Petroderivado; DCPIP.

### **Abstract**

Biodegradation is a very effective technology that can be used to recover areas impacted with petroderivatives. In this context, the aim of this work was to investigate the potential of *Penicillium* sp. (isolated from mangrove sediments in the state of Pernambuco) in the biodegradation of diesel oil. Identification of specie was performed by analyzing the macromorphological and micromorphological structures. The biodegradation study was carried out in Bushnell Haas medium containing the redox indicator 2,6-dichlorophenol indophenol (DCPIP) and the fungus previously acclimated

to different concentrations of burnt motor oil. The assay was incubated under static conditions and darkness for 72 h and every 24 h the biodegradation of the petroderivative was verified by UV-Vis spectrophotometry at 600 nm. The characteristics of the fungus indicated that the isolate is *Penicillium citrinum*. In the acclimation stage, *P. citrinum* grew in all tested concentrations of burnt motor oil (5, 10, 15 and 20%). In addition, the fungus was able to degrade diesel oil by the proven oxidation-reduction reaction indicated by the change in the color of the indicator from blue (oxidized form) to colorless (reduced form). The spectrophotometric analysis verified the occurrence of the biodegradation of diesel oil, resulting in the maximum value (70%) after 72 h. The present work demonstrates that the mangrove sediment isolate was identified as *P. citrinum* and it has promising potential for use in diesel oil biodegradation processes in impacted areas.

**Keywords:** Filamentous fungus; Bioremediation; Petroderivative; DCPIP.

### Resumen

La biodegradación es una tecnología muy efectiva que se puede utilizar para recuperar áreas impactadas con petroderivados. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue investigar el potencial de *Penicillium* sp. (aislado de sedimentos de manglar en el estado de Pernambuco) en la biodegradación de diesel. La identificación de especies se realizó analizando las estructuras macromorfológicas y micromorfológicas. El estudio de biodegradación se realizó en medio Bushnell Haas que contenía el indicador redox 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP) y el hongo previamente aclimatado a diferentes concentraciones de aceite de motor quemado. El ensayo se incubó en condiciones estáticas y en oscuridad durante 72 h y cada 24 h se verificó la biodegradación del petroderivado por espectrofotometría UV-Vis a 600 nm. Las características del hongo indicaron que el aislado es *Penicillium citrinum*. En la etapa de aclimatación, *P. citrinum* creció en todas las concentraciones de aceite de motor quemado (5, 10, 15 y 20%). Además, el hongo fue capaz de degradar diesel por la comprobada reacción de oxidación-reducción indicada por el cambio en el color del indicador azul (forma oxidada) a incoloro (forma reducida). El análisis espectrofotométrico verificó la ocurrencia de biodegradación de diesel, resultando en el valor máximo (70%) después de 72 h. El presente trabajo demuestra que el aislado de sedimento de manglar fue identificado como *P. citrinum* y tiene un potencial prometedor para su uso en procesos de biodegradación de diesel en áreas impactadas.

**Palabras clave:** Hongo filamentoso; Biorremediación; Petroderivado; DCPIP.

## 1. Introdução

Vazamentos e derramamentos acidentais com petroderivados ocorrem frequentemente no mundo devido as ações antrópicas, tais como exploração, produção, refino, transporte e armazenamento desses compostos (Ra, et al., 2020). Em adição, o descarte inadequado dessas substâncias resulta em consequências de difícil solução (Hamidi, et al., 2020).

O óleo diesel é um dos petroderivados mais abundantes obtido a partir do refino do petróleo bruto. Sua composição apresenta em elevada concentração hidrocarbonetos e em baixas concentrações o enxofre, nitrogênio e oxigênio. É um produto inflamável, tóxico, pouco volátil e com cheiro forte (Rodrigues, et al., 2010).

Estratégias para minimização da poluição causada por petroderivados vêm sendo frequentemente investigadas. A biodegradação é uma das estratégias biotecnológicas que utiliza micro-organismos potencialmente capazes de remover de ambientes contaminados o petróleo e derivados devido à sua abundância, diversidade de espécies, e sua versatilidade catabólica e anabólica, bem como à sua capacidade de adaptação a condições ambientais adversas (Bronw, et al., 2015).

Micro-organismos como os fungos filamentosos são agentes capazes de degradar ampla diversidade de substâncias orgânicas, comumente encontradas nos efluentes gerados pelas refinarias e indústrias, entre os quais está o óleo diesel. Entre os fungos estão os do gênero *Penicillium* sp. que possuem capacidade metabólica para atenuação dos efeitos tóxicos causadas por hidrocarbonetos por vias que são capazes de eliminar o poluente ou reduzir o efeito tóxico (Al-Hawash, et al., 2018; Mousavi, et al., 2018).

O *Penicillium citrinum* é um fungo que possui potencial de degradar o petróleo bruto por possuir genes catabólicos que mineralizam os substratos de hidrocarbonetos (Visagie, et al., 2014). São micro-organismos ubíquos com vasta distribuição mundial. Morfológicamente esse fungo possui estrutura em forma de pincel, produzem conídios pelos

conidióforos e suas células são encontradas no ápice do conidióforo sendo denominado métula (local que surge as fiáldes) (Bullerman, 2003).

A seleção de micro-organismos capazes de degradar petroderivados é uma etapa fundamental para o processo de biorremediação. Entre os métodos utilizados para detecção de microrganismos com potencial de degradar petroderivados está o uso do indicador redox 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPIP) como teste qualitativo. Esse teste pode detectar sensivelmente micro-organismos com potencial de degradar a partir da reação de oxi-redução que é indicada pela mudança de cor do DCPIP de azul (forma oxidada) para incolor (forma reduzida). Essa alteração é devido a mudança na estrutura molecular (Kubota, et al., 2010; Varjani & Upasani, 2013). Assim, essa metodologia é considerada eficaz e tem sido amplamente utilizada na seleção de micro-organismos com potencial de biodegradar (El-Hanafy et al., 2015; Al-Dossary, et al., 2020; Ozyurek, et al., 2021; da Silva, et al., 2022).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi investigar o potencial de biodegradação de óleo diesel pelo *Penicillium citrinum* isolado de sedimentos de mangue recentemente impactado com petróleo em Pernambuco, por ser esta uma alternativa viável e segura para recuperação de ambientes impactados.

## 2. Metodologia

### 2.1 Micro-organismo

O *Penicillium* sp. foi isolado de sedimentos de mangue do Estado de Pernambuco contaminado com petróleo e encontra-se mantido no banco de Cultura do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco, registrada no World Federation for Culture Collections (WFCC).

### 2.2 Identificação da espécie de *Penicillium* sp.

A identificação da espécie foi realizada pela análise micromorfológica e macromorfológica do *Penicillium* sp. Para tanto, a cepa foi inoculada em três pontos equidistantes em três meios de culturas diferentes: ágar extrato Czapek (CYA) [K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 g, concentrado Czapek 10 ml, extrato de levedura 5 g, sacarose 30 g, ágar 15 g e água destilada 1 L], ágar extrato de malte (MEA) [extrato de malte 20 g, peptona 10 g, glicose 20 g, ágar 20 g, água destilada 1 L] e ágar nitrato de glicerol (G25N) [K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,75 g, concentrado Czapek 7,5 ml, extrato de levedura 3,7 g, glicerol 250 g, ágar 12 g, água destilada 750 ml]. Posteriormente, o micro-organismo foi incubado nas estufas de 25°C e 37 °C (apenas CYA) por 7 dias. As características macroscópicas, como diâmetro, coloração e aspecto da colônia e estruturas microscópicas da cultura como foram analisadas de acordo como os modelos de Pitt (2000) e Frisvad e Samson (2004). Para observação das características microscópicas no microscópio de luz, lâminas foram confeccionadas em ácido láctico de colônias cultivadas em MEA e CYA, uma gota de álcool foi utilizada para retirar o excesso de esporos.

### 2.3 Aclimação do *Penicillium* sp.

A aclimação da cepa do *Penicillium* sp. foi realizada com óleo de motor queimado coletado em posto de combustível local. O petroderivado foi esterilizado a 100 °C e em seguida, foi transferido para meio Sabouraud sólido em diferentes concentrações (5, 10, 15 e 20%). Posteriormente, o *Penicillium* sp. foi aclimatado neste meio e acondicionado em estufa a temperatura de 28°C. O crescimento foi acompanhado a cada 24 h, até 72 h.

### 2.4 Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado utilizando dois discos do micélio fúngico (6 mm) após crescimento do *Penicillium* sp. previamente aclimatado em meio Sabouraud sólido suplementado com óleo de motor queimado a diferentes concentrações.

## 2.5 Petroderivado

O petroderivado utilizado no ensaio de biodegradação foi o óleo diesel previamente esterilizado por filtração em membrana de 0,22 µm de porosidade (KASVI, modelo K18-230).

## 2.6 Estudo da biodegradação do petroderivado

O potencial de degradação do petroderivado (óleo diesel) foi analisado a partir da redução do corante 2,6 diclorofenol-indofenol (DCPIP), pelo método desenvolvido por Hanson et al. (1993). O ensaio foi conduzido em tubos de ensaio contendo 9,7 mL do meio Bushnell Has – BH (constituído por 0,2 g/L MgSO<sub>4</sub>, 0,02 g/L CaCl<sub>2</sub>, 1,0 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,0 g/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e 0,05 g/L FeCl<sub>2</sub>). O meio BH foi esterilizado a 121°C por 15 min. Em seguida, foram acrescentados ao meio BH 200 µL de solução do indicador redox 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPIP) (0,5 g/L), 100 µL do petroderivado (óleo diesel) e o inóculo (dois discos do micélio fúngico aclimatado em cada concentração do petroderivado). Os controles abióticos foram preparados nas mesmas condições na ausência do *Penicillium* sp. e o ensaio foi realizado em duplicata. Os ensaios foram incubados durante 72 h a 28°C, em condições estáticas sem a presença de luz para evitar a ocorrência de foto-oxidação.

## 2.7 Detecção da biodegradação

Para detectar a ocorrência da biodegradação do óleo diesel pelo *Penicillium* sp., alíquotas de 2 ml foram retiradas dos tubos a cada 24 h e submetidas a centrifugação a 12000 rpm e 15°C por 15 min. Em seguida, os sobrenadantes foram retirados e a absorbância foi determinada a 600 nm em espectrofotômetro UV/Vis (modelo Libra S32, Biochrom Ltd.) (Ozyurek & Bilkay, 2020). Os dados de absorbância foram coletados e em seguida calculado a porcentagem de biodegradação, de acordo a Equação 1 (Mamitha, et al., 2013).

$$\text{Redução de cor (\%)} = \frac{(1 - \text{Absorção da amostra tratada}) \times 100}{\text{Absorbância do controle}} \quad (\text{Eq. 1})$$

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Identificação do *Penicillium* sp. isolado de sedimento de mangue do Estado de Pernambuco

Após crescimento do *Penicillium* sp. nos três diferentes meios de cultivo (CYA, MEA e G25) algumas estruturas foram observadas.

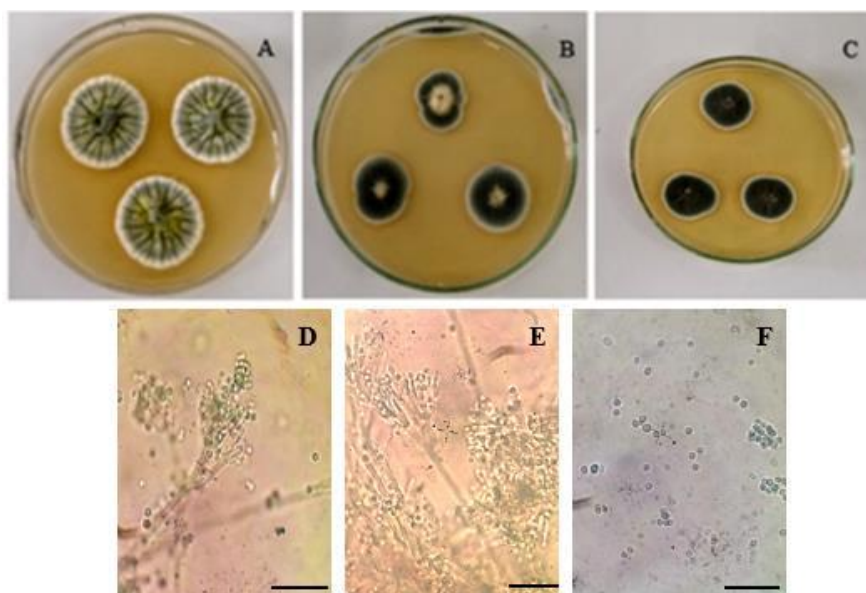
O *Penicillium* sp. apresentou colônias com tamanho entre 32–35 mm quando foi incubado no meio CYA a 25°C (Figura 1A), enquanto que a 37°C o tamanho das colônias variou entre 10–12 mm. Já no meio MEA o tamanho das colônias ficou em torno de 20–23 mm (Figura 1B) e no meio de cultura G25, as colônias de *Penicillium* sp. variaram entre 23–24 mm (Figura 1C).

Outra característica observada no *Penicillium* sp. foi o aparecimento de colônias radialmente sulcada com bordas velutíneas, micélio de coloração brancas nas bordas e centro com coloração amarelo acinzentado após crescimento em meio CYA incubado a 25°C. Em adição, conídios de coloração cinza foram observados (Figura 1A). A Figura 1B demonstra a presença de exsudato amarelado, reverso amarelado, colônia plana, micélio de coloração branca no centro e margens de coloração cinza azulado, esporulação intensa de coloração azul acinzentado após crescimento no meio MEA.

No meio G25 as colônias apresentaram-se radialmente sulcadas, com coniodiogênese moderada de coloração verde acinzentada (Figura 1C). Conidióforos predominante biverticilados (Figura 1D) e incomumente terverticilados (Figura 1E). Além disso, conidióforos lisos que alcançam até 300 µm, verticílios de 3-5 métulas com comprimentos de 12-16 µm, fiáldes ampuliformes (7–8 µm), conídios finamente rugosos, globosos a subglobosos 2,0–3,0 µm foram observados (Figura 1F). Portanto, as características macro e micromorfológicas descritas neste trabalho, estão de acordo com Seydametova et al.,

(2015) e Pitt (2000), indicando que o isolado é *Penicillium citrinum*. A cepa foi depositada na Coleção de Culturas UCP sob o código 1183.

**Figura 1:** *Penicillium citrinum* (A) Agar Czapek-CYA, (B) Ágar Extrato de Malte-MEA, (C) Meio ágar nitrato de glicerol (G25N), (D) Conidióforo biverticilado, (E) Conidióforo terverticilado, (F) Conídios (Barras de escala: C–D = 20 µm; E= 10 µm).

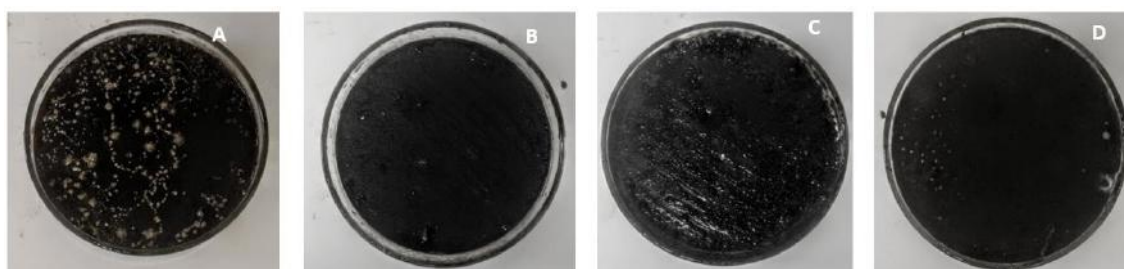


Fonte: Autores.

### 3.2 Potencial de crescimento do *Penicillium citrinum* UCP 1183 em meio sólido suplementado com óleo de motor queimado

A aclimação do micro-organismo no meio de cultura contendo petroderivado é essencial para potencializar capacidade de degradação e tolerância a petroderivados, tornando o processo rápido e eficiente (Passos, et al., 2009). Neste contexto, *P. citrinum* UCP 1183 foi capaz de crescer no meio Sabouraud sólido suplementado com óleo de motor queimado em todas as concentrações testadas (5, 10, 15 e 20%) após 72 h de incubação (Figura 2). Esses resultados estão de acordo com da Silva, et al., (2022) ao afirmarem que espécies de *Penicillium* sp. possuem capacidade de crescer em meio de cultura contendo até 20% do petroderivado.

**Figura 2:** Aclimação por *Penicillium citrinum* UCP 1183 em diferentes concentrações de óleo de motor queimado: (A) 5%; (B) 10%; (C) 15% e (D) 20%.



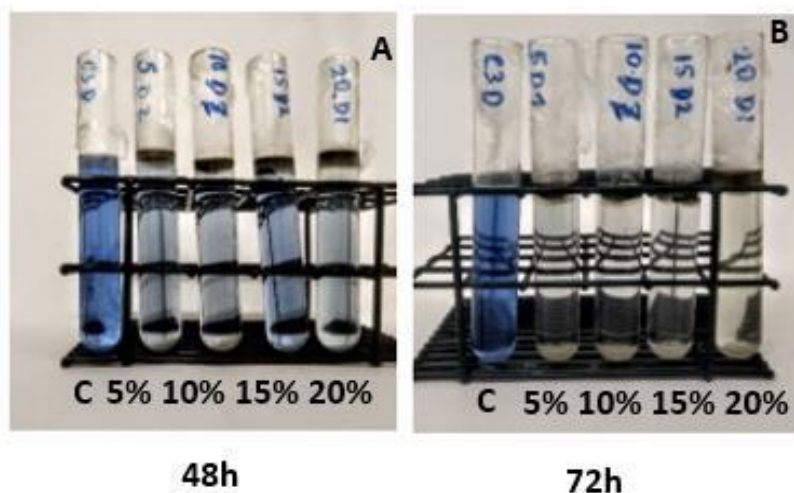
Fonte: Autores.



### 3.3 Biodegradação do óleo diesel por *Penicillium citrinum*

De acordo com os resultados obtidos no teste qualitativo (DCPIP), *P. citrinum* UCP 1183 aclimatado em todas as concentrações de óleo queimado de motor (5, 10, 15 e 20%) foi capaz de degradar o óleo diesel pela comprovada reação de oxi-redução indicada pela alteração da cor do indicador azul (forma oxidada) para incolor (forma reduzida) (Figura 3).

**Figura 3:** Potencial de *Penicillium citrinum* UCP 1183 na degradação do óleo diesel utilizando o método DCPIP após 48 h (A) e 72 h (B).



Fonte: Autores.

Por outro lado, a análise quantitativa demonstrou que a máxima degradação do óleo diesel (70%) ocorreu com o fungo aclimatado a 20% de óleo de motor queimado (Tabela 1), confirmando a importância da etapa de aclimação a petroderivados, a fim de garantir maior eficiência no processo de degradação (Passos, et al., 2009; Montero-Rodríguez, et al., 2014; da Silva, et al., 2022).

**Tabela 1:** Avaliação do potencial do *Penicillium citrinum* UCP 1183 na biodegradação do óleo diesel após o período de 48 h e 72 h.

Concentrações de aclimação do fungo	Absorbância (600 nm) 48 h	Absorbância (600 nm) 72 h	Biodegradação avaliada após 48 h (%)	Biodegradação avaliada após 72 h (%)
5	0,516	0,196	19,0	60,0
10	0,521	0,148	1,16	70,0
15	0,554	0,170	7,57	65,3
20	0,568	0,167	10,2	65,9

Fonte: Autores.

A Tabela 2 demonstra o resultado do potencial de biodegradação do óleo diesel por *P. citrinum* UCP 1183 avaliado após 72 h comparado aos dados da literatura na última década (2012-2022). De acordo com os dados, o fungo demonstrou excelente potencial de biodegradação do óleo diesel, similar ao porcentual relatado por da Silva et al. (2022) com 75% de biodegradação do petroderivado por *Penicillium* sp. e El-Aziz, (2021) com *Aspergillus terreus* (73,6%). Em adição, o potencial do *P. citrinum* em biodegradar óleo diesel foi superior a todos os demais citados na Tabela 2.

**Tabela 2-** Biodegradação de óleo diesel por *Penicillium citrinum* UCP 1183 comparado com dados da literatura (2012-2022).

Micro-organismos	Biodegradação (%)	Petroderivados	Referências
<i>Penicillium citrinum</i>	70,0	Óleo diesel	Presente estudo
<i>Scedosporium</i> sp.	58,6	Petróleo bruto	Atakpa, et al., (2022)
<i>Penicillium</i> sp.	75,0	Petróleo bruto	da Silva, et al., (2022)
<i>Aspergillus niger</i>	58,0	Petróleo bruto	Al-Dhabaan (2021)
<i>Aspergillus terreus</i>	73,6	Petróleo bruto	El-Aziz, et al. (2021)
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	44,5	Petróleo bruto	Benguenab (2020)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	69,7	Petróleo bruto	Madhavi, et al. (2020)
<i>Penicillium</i> sp.	57,0	Petróleo bruto	Al-Hawash, et al. (2018)
<i>Candida viswanathi</i>	50,0	Biodiesel	dos Anjos, et al. (2018)
<i>Penicillium griseofulvum</i>	70,0	Querosene de aviação	Maciel, et al. (2013)
<i>Penicillium documbens</i>	7,9	Petróleo bruto	Al-Nasrawi, (2012)

Fonte: Autores.

#### 4. Conclusão

O presente trabalho demonstra que o *Penicillium citrinum* UCP 1183 isolado de sedimentos de mangue contaminado com petróleo é um micro-organismo promissor para uso em processos de biodegradação do óleo diesel, assim como possui potencial de promover a recuperação de ecossistemas impactados. Por outro lado, o método colorimétrico utilizado neste trabalho representa uma importante ferramenta eficiente e de baixo custo para detectar micro-organismos capazes de degradar petroderivados.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro da FACEPE, CAPES e do CNPq, assim como ao Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB), da Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), pela disponibilidade de uso de reagentes, equipamentos e laboratórios.

#### Referências

- Alao, M. B., & Adebayo, E. A. (2022). Fungi as veritable tool in bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-polluted wastewater. *Journal of Basic Microbiology*, 62(3-4), 223-244.
- Al-dhabaan, F. A. (2021). Micorremediação de solo contaminado com petróleo bruto por fungos específicos isolados de Dhahran na Arábia Saudita. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 73-77.
- Al-hawash, A. B., Alkoorenee, J. T., Abbood, H. A., Zhang, J., Sun, J., Zhang, X., & Ma, F. (2018). Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field, Iraq. *Biotechnology reports*, 17, 104-109.
- Al-Nasrawi, H. (2012). Biodegradation of crude oil by fungi isolated from Gulf of Mexico. *J Bioremed Biodegrad*, 3(4), 147-52.
- Al-otibi, F., Al-zahrani, R. M., & Marraiki, N. (2022). The crude oil biodegradation activity of *Candida* strains isolated from oil-reservoirs soils in Saudi Arabia. *Scientific Reports*.
- Atakpa, E. O., Zhou, H., Jiang, L., Ma, Y., Liang, Y., Li, Y., Zhang, D., & Zhang, C. (2022). Improved degradation of petroleum hydrocarbons by co-culture of fungi and biosurfactant-producing bacteria. *Chemosphere*, 290, 133337.
- Behera, B. C., Mishra, R. R., & Thatoi, H. N. (2012). Diversity of soil fungi from mangroves of Mahanadi delta, Orissa, India. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2, 375-378.
- Benguenab, A., & Chibani, A. (2021). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by filamentous fungi (*Aspergillus ustus* and *Purpureocillium lilacinum*) isolated from used engine oil contaminated soil. *Acta Ecologica Sinica*, 41 (5), 416-423.

- da Silva, P. G. O., de Souza Mendonça, R., Costa, E. R. C., Campos-Takaki, G. M., da Silva Andrade, R. F., & Rodríguez, D. M. (2022). Bioprospecção de fungos filamentosos isolados de sedimentos de manguezais do estado de Pernambuco para biodegradação de petroderivados. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, 11(9), e11311931559-e11311931559.
- dos Anjos, N. A., de Lima, S. D., de Paula Rothebarth, A. V., de Lima, Z. M., Caixeta, D. S., & de Moraes, E. B. (2018). Bioremediation of diesel/biodiesel contaminated sandy soil in microcosm: evaluation of fungal bioaugmentation and natural attenuation. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 40, e39468-e39468.
- El-Aziz, A. R. A., Al-Othman, M. R., Hisham, S. M., & Shehata, S. M. (2021). Evaluation of crude oil biodegradation using mixed fungal cultures. *PLoS one*, 16(8), e0256376.
- Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in mycology*, 49(1), 1-174.
- Govarthanan, M., Fuzisawa, S., Hosogai, T., & Chang, Y. C. (2017). Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons using the filamentous fungus *Penicillium* sp. CHY-2 and characterization of its manganese peroxidase activity. *The Royal Society of Chemistry advances*, 7 (34), 20716-20723, 2017.
- Hamidi, Y., Ataei, S. A., & Sarraf, A., (2021). Biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge: a comparative study of biostimulation, bioaugmentation, and combination of methods. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96 (5), 1302-1307.
- Houbraken, J. A., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2010). Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. *Fungal Diversity*, 44(1), 117-133.
- Houbraken, J., Frisvad, J. C., & samson, R. A. (2011). Taxonomy of penicillium section citrina. *Studies in mycology*, 70, 53-138.
- Kong, X., Dong, R., King, T., Chen, F., & Li, H. (2022). Biodegradation Potential of *Bacillus* sp. PAH-2 on PAHs for Oil-Contaminated Seawater. *Molecules*, 27 (3), 687.
- Liu, H., Yang, G., Jia, H., & Sun, B. (2022). Crude oil degradation by a novel strain *Pseudomonas aeruginosa* AQNU-1 isolated from an oil-contaminated lake Wetland. *Behavioural Processes*, 10 (2), 307.
- Molaei, S., Moussavi, G., Talebbeydokhti, N., & Shekoochyan, S. (2022). Biodegradation of the petroleum hydrocarbons using an anoxic packed-bed biofilm reactor with in-situ biosurfactant-producing bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 421, 126699.
- Montero-Rodríguez, D., Andrade, R. F. S., Ribeiro, D. L. R., Lima, R. A., Araujo, H. W. C., & Campos-Takaki, G. M. (2014). Ability of *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549 for biosurfactant production using industrial wastes and fuels biodegradation *In: Industrial, medical and environmental applications of microorganisms: Current status and trends. Madrid*, 211-216.
- Olicón-Hernández, D. R., Camacho-Morales, R. L., Pozo, C., González-López, J., & Aranda, E. (2019). Evaluation of diclofenac biodegradation by the ascomycete fungus *Penicillium oxalicum* at flask and bench bioreactor scales. *Science of The Total Environment*, 662, 607-614.
- Passos, C. T. D., Burkert, J. F. D. M., Kalil, S. J., & Burkert, C. A. V. (2009). Biodegradação de fenol por uma nova linhagem de *Aspergillus* sp. isolada de um solo contaminado do sul do Brasil. *Química Nova*, 32, 950-954.
- Phulpoto, I. A., Hu, B., Wang, Y., Ndayisenga, F., Li, J., & Yu, Z. (2021). Effect of natural microbiome and culturable biosurfactants-producing bacterial consortia of freshwater lake on petroleum-hydrocarbon degradation. *Science of the Total Environment*, 751, 141720.
- Pitt, J. I. A laboratory guide to common *Penicillium* species. *Food Science Australia*, 2000.
- Popoola, L. T., Yusuff, A. S., Adeyi, A. A., & Omotara, O. O. (2022). Bioaugmentation and biostimulation of crude oil contaminated soil: Process parameters influence. *South African Journal of Chemical Engineering*, 39, 12-18.
- Ra, T., Zhao, Y., & zheng, M. (2019). Comparative study on the petroleum crude oil degradation potential of microbes from petroleum-contaminated soil and non-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(11), 7127-7136.
- Ramdass, A. C., & Rampersad, S. N. (2021). Diversity and oil degradation potential of culturable microbes isolated from chronically contaminated soils in Trinidad. *Microorganisms*, 9(6), 1167.
- Rodrigues, R. V., Miranda-Filho, K. C., Gusmão, E. P., Moreira, C. B., Romano, L. A., & Sampaio, L. A (2010). Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. *Science of the Total Environment*, 408(9), 2054-2059.
- Romero-Hernández, L., Velez, P., Betanzo-Gutiérrez, I., Camacho-López, M. D., Vázquez-Duhalt, R., & Riquelme, M. (2021). Extra-heavy crude oil degradation by *Alternaria* sp. isolated from deep-sea sediments of the Gulf of Mexico. *Applied Sciences*, 11 (13), 6090.
- Sánchez, C. (2020). Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro-and microplastics biodegradation. *Biotechnology advances*, 40, 107501.
- Seydametova, E., Zainol, N., Salihon, J., & Convey, P. (2015). Mangrove rhizosphere soils: a unique natural source of pravastatin-producing *Penicillium* microfungi. *International Journal of Extensive Research*, 5, 79-87.
- Tiwari, M; Saraf, A; & Shrivastava, Meghna. (2020). Comparative In Vitro Assessment of Hydrocarbon Degradation Potential of *Pleurotus ostreatus* MP 5 and *Pleurotus ostreatus* MTCC 1804. *Nature Environment & Pollution Technology*, 19 (1).
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology*, 53(1), 53-62.
- Wahab, A. A., Awang, A. S. A. H., Azham, Z., Tay, M. G., & Adeyemi, F. M. (2017). Biosorption of lead (II) ion using *Penicillium citrinum* KR706304 isolated from the mangrove soil environment of southeast Borneo. *Ife Journal of Science*, 19(2), 341-351.
- Wojtowicz, K., Steliga, T., Kapusta, P., Brzeszcz, J., & Skalski, T. (2022). Evaluation of the Effectiveness of the Biopreparation in Combination with the Polymer  $\gamma$ -PGA for the Biodegradation of Petroleum Contaminants in Soil. *Materials Research*, 15(2), 400.