

---

## Hidrocarbonetos produzidos por bactérias da Antártica

### *Hydrocarbons produced by bacteria from Antarctic*

Eliziane Batista<sup>1</sup>; Júlia Ronzella Ottoni<sup>2</sup>; Adilson Sartoratto<sup>3</sup>, Valéria Maia de Oliveira<sup>4</sup>;  
Michel Rodrigo Zambrano Passarini<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Integração Latino-America (UNILA), Câmpus Jardim Universitário, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil

<sup>2</sup> Centro Universitário Dinâmica das Cataratas (UDC), Centro, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (DQOF/CPQBA), Paulínia, São Paulo, Brasil

<sup>4</sup> Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Divisão de Recursos Microbianos do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (DRM/CPQBA), Paulínia, São Paulo, Brasil

\*Autor correspondente. E-mail: michel.passarini@unila.edu.br

Recebido: 06/06/2019; Aceito: 08/08/2019

---

### RESUMO

A utilização dos recursos fósseis em processos industriais vem cada vez mais acarretando um grande impacto ambiental. Microrganismos de ambientes extremos possuem características únicas que garantem sua sobrevivência nestas regiões. Bactérias do continente Antártico apresentam potencial para produção de hidrocarbonetos, representando uma nova fonte energética sustentável para a produção de biocombustível. O presente trabalho objetivou avaliar a produção de hidrocarbonetos por bactérias isoladas de amostras marinhas do continente Antártico. Seis bactérias isoladas foram cultivadas em meio de cultivo para extração de lipídeos. A extração dos lipídeos foi realizada com uma mistura de clorofórmio/metanol/água, sendo confirmados por cromatografia em camada delgada. A massa seca das células bacterianas foi determinada, permitindo observar um crescimento microbiano padrão entre as linhagens. As análises cromatográficas mostraram que a extração dos lipídeos foi eficiente, produzindo lipídeos entre C3-C18. Os resultados confirmam o potencial de bactérias de ambientes extremos para produzir compostos com aplicação biotecnológica.

**Palavras-chave:** biocombustível, ambientes frios, fontes renováveis, extremófilos.

### ABSTRACT

The use of fossil resources in industrial processes results in increasing environmental impact. Microorganisms from extreme environments have unique characteristics that guarantee their survival in cold regions. Bacteria from the Antarctic continent have potential for hydrocarbon production, offering a new sustainable energy source for biofuel production. The present work aimed the evaluation of hydrocarbons production from bacteria isolated from marine samples from the Antarctic continent. Six bacteria isolated were cultivated in the lipid extraction culture medium. Lipid extraction was performed with a chloroform/methanol/water mixture and confirmed by thin layer chromatography. The evaluation of the bacteria cells dry mass allowed to observe a standard microbial growth among the strains. Chromatographic analyses showed that lipid extraction was efficient, yielding lipids between C3-C18. Future studies must to be performed to exploring microbial adaptation to these extreme

conditions. Results confirmed the potential of bacteria from extreme environments to produce compounds for biotechnological application

**Keywords:** biofuel, cold environments, renewable sources, extremophiles.

---

## INTRODUÇÃO

O interesse pelos biocombustíveis vem se intensificando ao longo das últimas décadas, devido principalmente a fatores ligados à dependência energética do petróleo e à minimização da emissão de gases que afetam diretamente o efeito estufa. A dependência do petróleo se tornou algo preocupante a partir da crise na década de 70, motivando assim as buscas por novas fontes renováveis de energia (LEITE, 2007). Em 1997, houve a assinatura do Protocolo de Kyoto (com sua aplicação a partir de 2005), o qual estimularia uma nova investida na busca por alternativas que favorecessem a substituição das fontes não renováveis, bem como um aumento da eficiência na produção energética, fazendo uso de novas tecnologias ou adotando medidas para evitar perdas da mesma (MACHADO, 2013).

Com o rápido crescimento da população mundial, espera-se um aumento da demanda global de energia. O setor de transporte e o industrial desempenham um papel cada vez mais importante na economia moderna, proporcionando grandes benefícios para a sociedade e economia de um país. Por outro lado, esses setores são responsáveis por impactos negativos devido ao enorme consumo de energia, à demanda de recursos financeiros, de bens materiais e de serviços (MACHADO, 2013). O constante aumento da utilização dos recursos naturais e os impactos ecológicos causados pela exploração destes recursos fazem com que haja uma necessidade de desenvolvimento de fontes alternativas renováveis para obtenção de energia.

A utilização e desperdício dos recursos fósseis em processos industriais e rotineiros vêm acarretando um grande impacto ambiental. Como medida de reduzir o impacto ao ambiente, cresce a implementação de fontes de energia limpas, como energia eólica, solar, hidrelétrica, bem como a exploração da biomassa microbiana. O estudo dos metabólitos microbianos com potencial aplicação no setor de biocombustível a partir da biomassa vem sendo abordado em muitas áreas de bioprospecção (MAGRO et al., 2016). Os microrganismos têm tido um papel fundamental em vários processos tecnológicos, com o avanço da biotecnologia e a especialização da microbiologia industrial, tornando-se assim alvos de estudos para a descoberta de diversos compostos utilizados atualmente nas indústrias (BATISTA et al., 2018).

Ambientes frios são frequentemente colonizados por microrganismos, entre eles bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Na Terra, os microrganismos representam as formas de vida mais abundantes em termos de diversidade de espécies (MARGESIN e MITEVA, 2011). A sua sobrevivência está diretamente relacionada às características morfológicas e fisiológicas destes microrganismos, tais como tamanho, arranjo e forma, bem como sua taxa de proliferação. As espécies microbianas assumem diferentes morfologias celulares devido a uma propriedade geneticamente codificada, que lhes proporciona uma adequação bem sucedida em seus habitats particulares. Dentre as explicações para esses arranjos celulares estão a otimização na captura de nutrientes e uma melhor mobilidade natatória em diferentes ambientes (MADIGAN et al., 2016).

A temperatura possui grande impacto no desenvolvimento de uma dada espécie de organismo, sendo que novos gêneros e espécies de microrganismos psicrófilos ou psicrótrópicos vêm sendo descobertos a partir de diferentes ambientes gelados (MORGAN-KISS et al., 2006, MARGESIN e MITEVA, 2011). Um dos elementos-chave para a adaptação microbiana às condições extremas dos ambientes polares está relacionado com a capacidade de superar os efeitos negativos das baixas temperaturas, a qual se baseia em alterações na

composição dos ácidos graxos insaturados em suas membranas de maneira a proporcionar maior fluidez (WHITE et al., 2000; CANGANILLA e WIEGEL, 2011).

A capacidade dos microrganismos em adaptarem-se às mais diversas condições ambientais tem despertado o interesse na busca por moléculas estáveis em faixas de temperaturas muito elevadas ou muito baixas. Os compostos que vêm se destacando, principalmente na utilização como biocombustível renovável e sustentável, são os hidrocarbonetos derivados de ácidos graxos (LADYGINA et al., 2006). Assim, estas células podem apresentar um grande potencial na produção de biocombustíveis como fontes renováveis, tornando possível a substituição à longo prazo dos combustíveis derivados do petróleo (ATSUMI et al., 2008).

Considerados compostos ricos em energia, as longas cadeias de hidrocarbonetos têm sido pesquisadas como precursores ideais para os biocombustíveis. Embora os ácidos graxos livres não possam ser utilizados diretamente como combustíveis, seus derivados, incluindo alcanos derivados de ácidos graxos e alcenos, são bons alvos para a produção de biocombustíveis devido à baixa solubilidade em água e à alta densidade energética (ZHANG et al., 2011). Neste sentido, a busca por novas células microbianas a partir de ambientes extremos como o Antártico representa uma estratégia promissora na obtenção de novas moléculas, uma vez que, devido à adaptação às baixas temperaturas, microrganismos oriundos deste ambiente podem apresentar rotas metabólicas peculiares ainda não conhecidas para essa finalidade.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial de linhagens de bactérias isoladas a partir de amostras do ambiente Antártico para produção de hidrocarbonetos, visando futura aplicação em processos de produção de biocombustível, com foco na aviação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Linhagens bacterianas*

Foram utilizadas seis linhagens de bactérias derivadas de amostras do continente Antártico isoladas de acordo com Silva et al. (2018). Estas linhagens encontram-se depositadas no acervo de pesquisa da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria (CBMAI), do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA)/UNICAMP, e foram cedidas no âmbito do projeto AP FAPESP intitulado “*Multi-ômicas aplicadas ao conhecimento e exploração de microbiomas Antárticos*” (Processo no. 2016/05640-6).

Para a realização dos experimentos, as bactérias preservadas em 20% de glicerol pelo método de ultra-congelamento (- 80 °C), foram reativadas de acordo com BATISTA et al., (2018). Após o crescimento, os isolados foram submetidos aos testes de extração dos lipídeos e de determinação da biomassa microbiana.

### *Extração dos lipídeos em solução*

No total, seis linhagens bacterianas foram utilizadas no estudo. As células foram cultivadas em frascos de 50 mL, contendo 20 mL do meio de cultivo MEL – meio para extração de lipídeos (PARK et al., 2001), modificado, contendo: 2 mg L<sup>-1</sup> de EDTA. 2 Na; 2,8 mg L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,75 mg L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2 H<sub>2</sub>O; 0,24 mg L<sup>-1</sup> de ZnSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O; 2,1 mg L<sup>-1</sup> de MnSO<sub>4</sub>·4 H<sub>2</sub>O; 0,04 mg L<sup>-1</sup> de Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O; 0,75 mg L<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O; 0,2 mg L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O; 0,025 mg L<sup>-1</sup> de tiamina-HCl; 0,025 mg L<sup>-1</sup> de biotina; 0,025 mg L<sup>-1</sup> de nicotina; 0,025 mg L<sup>-1</sup> de ácido p-amino benzóico; 0,01 g L<sup>-1</sup> de FeSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O; 1,64 g L<sup>-1</sup> de ácido acético; 1,92 g L<sup>-1</sup> ácido propiônico; 1,32 g L<sup>-1</sup> de sulfato de amônio; 0,2 g L<sup>-1</sup> de extrato de levedura; 2,7 g L<sup>-1</sup> de ácido succínico, 1,87 g L<sup>-1</sup> de ácido málico e 30 g de NaCl L<sup>-1</sup>; pH 7,0 com KOH. Os frascos foram incubados a 5 °C, sob agitação de 150 rpm. Os experimentos foram realizados em duplicata. Após 7 dias, as culturas foram

coletadas e os lipídios foram extraídos de acordo com metodologia descrita por BLIGH e DYER (1959), modificada.

O conteúdo de cada frasco foi transferido para um funil de separação e, para cada 1 mL de meio fermentativo, foram adicionados 3,75 mL de clorofórmio/metanol (1:2) v/v. As amostras foram agitadas no funil vigorosamente. Em seguida foram adicionados 1,25 mL de clorofórmio e uma nova agitação foi realizada. Adicionou-se 1,25 mL de água, seguida de uma nova agitação vigorosa. O excesso de água foi retirado com 10 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e a fase orgânica (inferior) foi recuperada, sendo então submetida à evaporação do solvente em capela de exaustão. O resíduo seco foi suspenso em 500 µL de metanol. As amostras foram submetidas a testes de identificação dos lipídeos/hidrocarbonetos extraídos por Cromatografia em Camada Delgada.

#### *Cromatografia em Camada Delgada (CCD)*

Os procedimentos de CCD foram realizados de acordo com metodologia proposta por PARK et al., (2005). O sistema de solvente utilizado foi hexano/éter etílico/água (80:20:1). Uma mistura de hidrocarbonetos C3-C18 (n-alcenos) foi usada em uma placa de sílica gel como padrão para a análise. Vapor de iodo foi utilizado como revelador da placa. Foram adicionados cerca de 10-15 µL de cada amostra com auxílio de um capilar de vidro.

#### *Análise do peso seco da biomassa bacteriana*

Para a análise do peso seco foram utilizadas as duplicatas das amostras descritas no item “*Extração dos lipídeos em solução*”. Assim, 10 mL do meio de cultivo foram transferidos para tubos plásticos de 2 mL previamente secos e pesados e esse procedimento foi repetido mais 4x para cada amostra testada. Os tubos foram submetidos à centrifugação de 10.000 rpm por 10 minutos, em centrífuga refrigerada (Daiki). O líquido sobrenadante foi descartado, e os tubos foram submetidos à secagem a 70 °C em estufa de secagem (Lucadema). Os tubos com as células bacterianas (sem umidade) foram pesados e a diferença do peso de cada tubo sem células e com células (após as etapas de centrifugação e secagem) foram calculadas de acordo com a fórmula:

Peso seco = massa do tubo seco (com célula) – massa do tubo seco (sem célula)

#### *Caracterização morfológica dos isolados*

As análises macroscópicas e microscópicas foram realizadas com as seis linhagens bacterianas. As bactérias foram cultivadas em meio de cultivo NA (ágar nutriente), constituído de 0,3 % de extrato de carne, 0,5 % de peptona, 1,5 % de ágar, em pH ajustado para 6,8 com hidróxido de sódio. As placas foram incubadas na geladeira a 4 °C por 7 dias. As análises macroscópicas foram realizadas com auxílio de um estereoscópio NIKON SMZ 745 Modelo C-LEDS (China), sendo avaliadas as características de crescimento, cor, forma e brilho das colônias. A caracterização microscópica dos isolados foi realizada com o auxílio do microscópio Nikon Eclipse E200, por meio da técnica de coloração de Gram onde, bactérias coradas em roxo e vermelho, foram caracterizadas como gram-positivas e gram-negativas, respectivamente (MADIGAN et al., 2016).

## **RESULTADOS**

#### *Extração dos lipídeos em solução*

Os experimentos de extração de hidrocarbonetos com as 6 linhagens bacterianas utilizadas (Tabela 1) foram bem sucedidos, visto que o protocolo utilizado foi eficiente para a extração dos lipídios de cada amostra (Figura 1). As Figuras 2A e B ilustram o cultivo das linhagens bacterianas e o ensaio de extração de lipídeos.

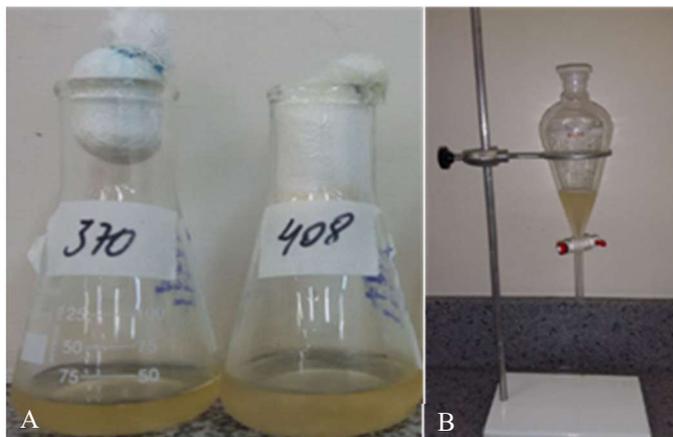
Na Figura 1 é possível observar com clareza que as amostras foram eluídas pela mistura de solventes contendo hexano/éter etílico/água, e apesar da baixa concentração das amostras aplicadas na camada de sílica gel, os resultados sugerem uma produção relativamente baixa de lipídios, incluindo os hidrocarbonetos n-alcenos C3-C18, o que foi verificado pela marca dos *spots* das amostras na mesma altura do controle utilizado contendo os n-alcenos (C3-C18).

**Tabela 1:** Análises morfológicas dos isolados bacterianos estudados

Isolado	Microscopia Coloração de Gram	Macroscopia	Morfologia
370	+	laranja claro	bacilo
408	+	amarelo escuro	cocobacilo
593	+	amarelo escuro	cocobacilo
595	+	amarelo claro	cocobacilo
597	+	amarelo claro	bastonete
628	+	amarelo claro	bastonete



**Figura 1.** CCD dos extratos bacterianos. A - padrão de hidrocarbonetos (C3-C18); B- 597; C- 593; D- 595; E- 370; F- 628; G- 408. A caixa preta mostra o local do aparecimento dos *spots*. Foram adicionados de 10-15  $\mu$ l de cada amostra.



**Figura 2A.** Linhagens bacterianas utilizadas no presente estudo. **B:** Procedimento utilizado na extração de lipídeos (funil de separação).

#### *Análise do peso seco*

A massa seca das linhagens de bactérias testadas nos experimentos de extração de lipídeos foi determinada e foi possível observar um crescimento celular microbiano padrão entre as linhagens, apresentando uma produção de biomassa entre 19,5 a 20,2 mg mL<sup>-1</sup>, durante os 7 dias de incubação.

#### *Caracterização morfológica dos isolados*

Com relação à caracterização microscópica, as seis bactérias (código de isolamento: 370, 408, 593, 595, 597 e 628) foram identificadas como sendo isolados bacterianos Gram-positivos (apresentando coloração roxa). Dentre eles, três isolados apresentaram morfologia de cocobacilos, dois bastonetes e um de bacilo. A cor das colônias variou de amarelo claro, a laranja claro (Tabela 1).

## **DISCUSSÃO**

A produção de hidrocarbonetos por linhagens microbianas é um processo bem descrito e existem trabalhos que mostram a produção destes compostos. De acordo com PARK et al., (2001), uma linhagem de *Vibrio furnissii* foi capaz de produzir alcanos de cadeias longas, entre eles C15, C18, C21, C22 e C24, os quais foram identificados por metodologias de cromatografia. Linhagens que apresentaram a capacidade de produção de hidrocarbonetos alifáticos já foram descrita na literatura (LADYGINA et al., 2006). Bactérias gram-positivas do gênero *Clostridium* podem produzir hidrocarbonetos intracelulares de C11 a C35, com uma predominância de alcanos de cadeia média (C18 – C27) ou de cadeia longa (C25 – C35) (LADYGINA et al., 2006).

Com relação aos experimentos de análises do peso seco, foi observado um crescimento satisfatório entre as linhagens estudadas. Entretanto, um crescimento microbiano relativamente satisfatório não necessariamente representa uma boa produção dos compostos de interesse. Trabalhos em nosso grupo de pesquisa têm demonstrado que bactérias de crescimento lento podem produzir potenciais compostos de interesse industrial

como, por exemplo, bactérias do ambiente Antártico com potencial de produção da enzima amilase (BATISTA et al., 2018).

As morfologias das linhagens encontradas (bacilos, cocobacilos e bastonetes Gram-positivos) são frequentemente observadas a partir de amostras marinhas coletadas no continente Antártico. Um grande número de microrganismos distintos vem sendo isolado a partir de amostras coletadas na Antártica. YU et al., (2010) isolaram 65 bactérias heterotróficas a partir de amostras de sedimento da região costeira da Antártica, as quais foram distribuídas nos grupos filogenéticos Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria e Firmicutes. Neste trabalho, um maior número de isolados foi afiliado ao grupo das bactérias Gram-positivas, enquanto apenas 16 revelaram-se como bactérias Gram-negativas. SILVA e colaboradores (2018) isolaram 326 bactérias associadas a diversas amostras do continente Antártico, incluindo sedimentos, solo com biofilme, esponjas e estrelas marinhas e líquens. As bactérias isoladas foram afiliadas a 39 gêneros distintos, sendo a maioria, representantes do gênero *Arthrobacter* seguido pelos gêneros *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas* e *Rhodococcus*.

Diversos outros ambientes são conhecidamente fontes de comunidades microbianas na Antártica. Células microbianas podem ser isoladas de amostras de geleiras, lagos, montanhas, bem como de amostras oriundas do *permafrost*. Estas comunidades podem ser representadas por algas e cianobactérias fotossintéticas, bactérias heterotróficas, vírus, leveduras, fungos, entre outros (SIMON et al., 2009; ADAMS et al., 2010; MARGESIN E MITEVA, 2011).

Assim, observando os resultados a partir dos experimentos de extração de lipídeos podemos dizer que os isolados testados podem ser considerados como potencialmente produtores de hidrocarbonetos, os quais foram confirmados por experimentos de cromatografia em camada delgada. Ensaios adicionais para confirmação da composição química destes compostos e otimização da sua produção necessitam ser realizados, para desta forma abrir caminho para o uso futuro destes microrganismos em processos biotecnológicos como fontes renováveis de energia, entre elas o biocombustível.

## CONCLUSÃO

A metodologia empregada no trabalho foi realizada com sucesso, pois foi possível a realização da extração dos lipídeos/hidrocarbonetos bem como a avaliação da biomassa seca e a identificação morfológica das seis linhagens estudadas. Amostras derivadas de ambientes extremos podem ser consideradas fontes promissoras na busca por compostos de interesse industrial, como os hidrocarbonetos, os quais podem ser utilizados como biocombustíveis em futuros processos biotecnológicos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal da Integração Latina-Americana (UNILA) pela aprovação da aluna Eliziane Batista no Edital PRPPG 16/2015 - Programa de Iniciação Científica da UNILA PIBIC-UNILA 2015/2016.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, H.E.; CRUMP, B.C.; KLING, G.W. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams. **Environmental Microbiology**, v. 12, p. 1319-1333, 2010.

ATSUMI, S.; HANAI, T.; LIAO, J.C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. **Nature**, v. 451, p. 86-90, 2008.

BATISTA, E.; WATANABE, J.Y.M.; OLIVEIRA, V.M.; PASSARINI, M.R.Z. Avaliação da produção de amilase e protease por bactérias da Antártica. **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, v. 5, p. 13-29, 2018.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

CANGANELLA, F.; WIEGEL, J. Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond. **Naturwissenschaften**, v. 98, p. 253-279, 2011.

LADYGINA, N.; DEDYUKHINA, E.G.; VAINSHTEIN, M.B. A review on microbial synthesis of hydrocarbons. **Process Biochemistry**, 41, p. 1001-1014, 2006.

LEITE, R.C.C.; LEAL, M.R.L.V. O biocombustível no Brasil. **Novos Estudos**, v. 78, p. 15-21, 2007.

MACHADO, C.M.M. **Microrganismos na produção de biocombustíveis líquidos**. 1ª ed. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2013.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D.A. **Microbiologia de Brock**. 14ª ed. Porto Alegre: Artemed, 2016.

MAGRO, F.G.; DECESARO, A.; BERTICELLI, R.; COLLA, L.M. Produção de Bioetanol Utilizando Microalgas: Uma Revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 37, p. 159-174, 2016.

MARGESIN, R.; MITEVA, V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. **Research in Microbiology**, 162, p. 346-61, 2011.

MORGAN-KISS, R.M.; PRISCU, J.C.; POCOCK, T.; GUDYNAITE-SAVITCH, L.; HUNER, N.P.A. Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 70, p. 222-252, 2006.

PARK, M.O.; TANABE, M.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K. Isolation and characterization of a bacterium that produces hydrocarbons extracellularly which are equivalent to light oil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, p. 448-452, 2001.

PARK, M.O.; HEGURI, K.; Hirata, K.; MIYAMOTO, K. Production of alternatives to fuel oil from organic waste by the alkane-producing bacterium, *Vibrio furnissii* M1. **Journal of Applied Microbiology**, v. 09, p. 324-331, 2005.

SILVA, T.R.; DUARTE, A.W. F.; PASSARINI, M.R.Z.; RUIZ, A.L.T.G.; FRANCO, C.W.; MORAES, C.B.; MELO, I.S.; RODRIGUES, R.A.; FANTINATTI, G.; GARBOGGINI, F.; OLIVEIRA, V.M. Bacteria from Antarctic environments: diversity and detection of antimicrobial, antiproliferative, and antiparasitic activities. **Polar Biology**, v. 41, p. 1505-1519, 2018.

SIMON, C.; WIEZER, A.; STRITTMATTER, A.W.; DANIEL, R. Phylogenetic diversity and metabolic potential revealed in a glacier ice metagenome. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 7519-7526, 2009.

WHITE, P.L.; WYNN-WILLIAMS, D.D.; RUSSELL, N.J. Diversity of thermal responses of lipid composition in the membranes of the dominant culturable members of an Antarctic fellfield soil bacterial community. **Antarctic Science**, v. 12, p. 386-393, 2000.

YU, Y.; LI, H.; ZENG, Y.; CHEN, B. Phylogenetic diversity of culturable bacteria from Antarctic sandy intertidal sediments. **Polar Biology**, v. 33p. 869-875, 2010.

ZHANG, F.; RODRIGUEZ, S.; KEASLING, J.D. Metabolic engineering of microbial pathways for advanced biofuels production. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, p. 775-783, 2011.