

Universitatea “Babeş-Bolyai”
Facultatea de Biologie și Geologie
Școala doctorală Biologie integrativă

Vulcanii noroioși tereștri și prezența bacteriilor
indigene capabile de oxidarea hidrocarburilor
poliaromatice: abordare microbiologică
și bioinformatică (rezumat)

Student-doctorand:
Alexei Remizovschi

Conducător științific:
Prof. Habil. dr. Anca Butiuc

Cluj-Napoca,
2024

Cuprins

Introducere.....	2
Vulcanii noroioși și bacteriile HAP-oxidante.....	2
Bazele de date biologice secvențiale și textuale.....	2
Scop și obiective.....	3
Materiale și metode.....	4
Prelevarea probelor sedimentare din vulcanilor noroioși.....	4
Îmbogățirea culturii HAP-oxidante.....	5
Analiza microscopică a culturii îmbogățite.....	5
Identificarea taxonomică a culturii îmbogățite HAP-oxidante pe baza secvenței genei <i>ARNr 16S</i>	6
Analiza transcriptomică.....	6
Crearea algoritmului NLP și construcția bazei de date textuale.....	6
Rezultate și discuții.....	7
Cultura HAP-oxidantă.....	7
Analiza diferențială a genelor exprimate în specia dominantă a culturii HAP- oxidante - <i>Pseudomonas</i> sp.....	8
Baza de date / aplicația web - muddy_db.....	10
Concluzii.....	11
Resurse informatice.....	12
Cuvinte cheie.....	12
Bibliografie.....	13

Introducere

Vulcanii noroioși și bacteriile HAP-oxidante

Hydrocarburile poliaromatice (HAP) sunt poluanți prioritari care rezultă atât în urma proceselor naturale catagenetice cât și în urma reacției antropice de ardere a combustibilului fosil. HAP sunt acumulate în solurile din zonele industriale și reprezintă un pericol pentru sănătatea cetățenilor (Vandenbroucke și colab., 2007; Keith, 2014).

În vederea bioremedierii solurilor contaminate cu HAP, este necesară elaborarea unor noi biotehnologii care ar implica microorganisme HAP-oxidante specializate, izolate din ecosisteme, unde HAP sunt prezente datorită proceselor naturale fără implicarea factorilor antropici.

Un ecosistem potrivit pentru identificarea microorganismelor HAP-oxidante specializate este vulcanul noroios. Vulcanii noroioși sunt formațiuni geologice care se formează în urma proceselor catagenetice naturale (Mazzini și Etiope, 2017). În cadrul sedimentelor unui vulcan noroios s-ar putea găsi bacterii specializate în oxidarea HAP. Vulcanii noroioși reprezintă o alternativă pentru solurile din zonele industriale unde HAP sunt prezente datorită activității antropice și unde bacteriile HAP-oxidante sunt facultative (Alain și colab., 2006; Abdel-Shafy și colab., 2016).

Bazele de date biologice secvențiale și textuale

Unitatea de bază a unei baze de date biologice clasice este secvența biologică. Cele mai solicitate baze de date biologice (Genbank, UnitProt) sunt bazate fie pe secvențe nucleotidice, fie pe cele proteice (Brown și colab., 2014; Consortium, 2014; Benson și colab., 2017). Bazându-se doar pe secvența biologică, aceste baze de date posedă un număr de dezavantaje precum ignorarea contextului studiilor de unde au fost obținute aceste secvențe. Mai mult decât atât, aceste baze de date nu integrează concluziile cercetărilor expuse în articolele publicate.

În vederea soluționării acestui impas, în cadrul acestui studiu s-a propus un nou tip de bază de date. În mod specific, s-a propus pentru prima dată o bază de date biologică textuală. Acest tip de bază de date obține informație biologică din articolele publicate. În contrast cu bazele de date clasice, cele textuale au drept bază lexemele cu relevanță biologică.

Scop și obiective

Scopul acestei teze reprezintă *evidențierea vulcanilor noroioși tereștri ca suport pentru dezvoltarea comunităților bacteriene apte de oxidarea hidrocarburilor poliaromatice*. În vederea atingerii acestui scop s-au fixat două obiective:

- Evidențierea vulcanilor noroioși tereștri drept medii favorabile pentru studiul și descrierea abilităților hidrocarbonoclastice ale bacteriilor HAP-oxidante.
- Implementarea primei baze de date textuale specializate în vulcanii noroioși, care ar extrage date relevante din literatura de specialitate și ar valida rezultatele obținute de analiza microbiologică din acesti studiu

Materiale și metode

Prelevarea probelor sedimentare din vulcanilor noroiși

În cadrul acestui studiu, s-a ținut izolare unor bacterii HAP-oxidante din sedimentele obținute din cadrul unui vulcan noroios (Lat: 48°2'12.0588"N, Long: 27°11'46.9428"E). Sedimentele obținute din vulcanul noroios au fost extrase cu un prelevator manual de la diverse adâncimi și ulterior au fost amestecate (1:1) pentru a crea o probă reprezentativă (Figura 1).

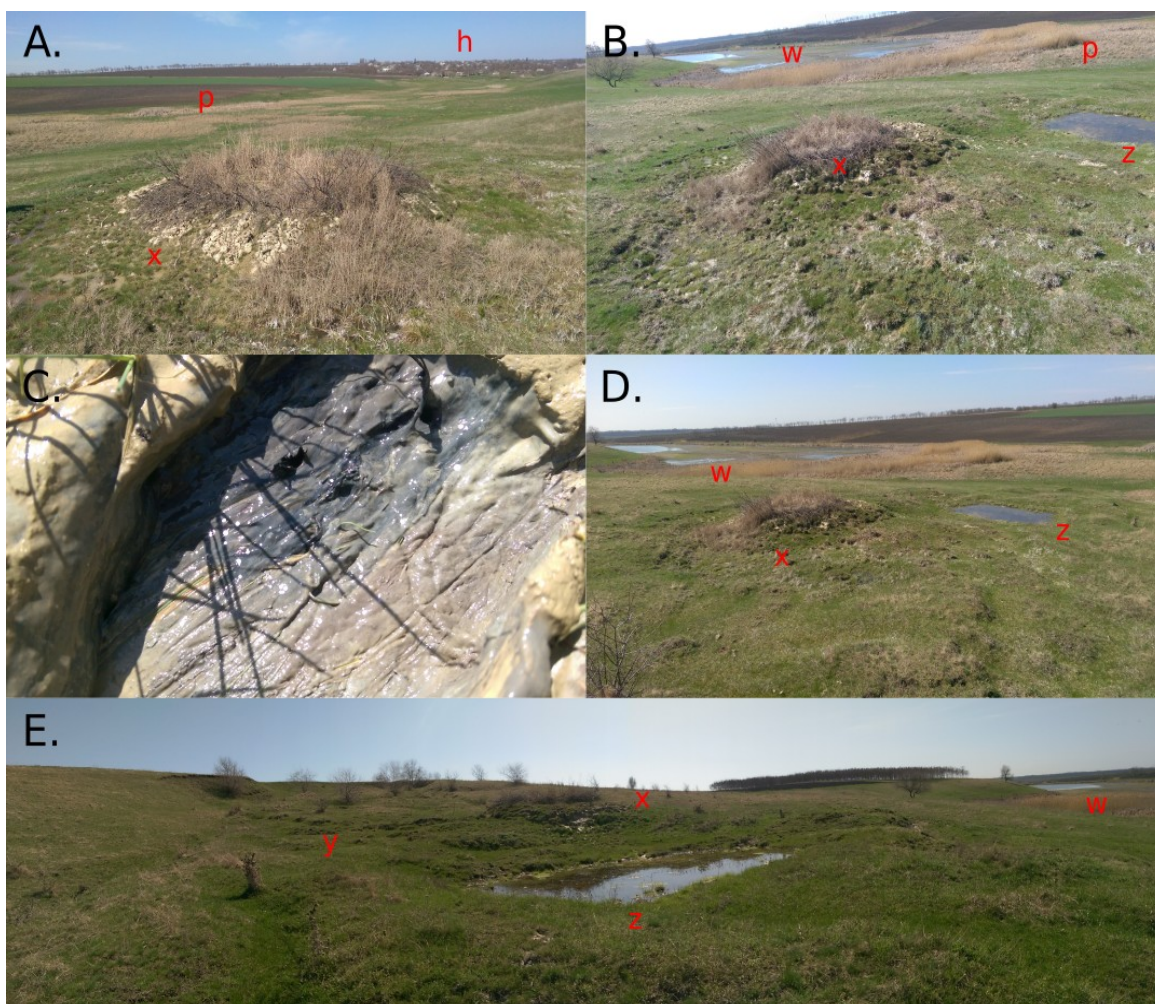


Figura 1. Vulcanul noroios investigat. **A, B, D, E** - vulcanul noroios și localizarea sa, **C** - probă de noroi. **x** - vulcanul noroios analizat, **p** - pârâu, **h** - localitatea Hancăuți, **w** - lac de acumulare, **z** - prăbușire de pământ, **y** - câmp cu vulcani noroiși inactivi.

Îmbogățirea culturii HAP-oxidante

Pentru a izola microorganismele HAP-oxidante, (1) s-a efectuat o diluție serială a sedimentelor și (2) s-a preparat mediul de îmbogățire (Yin și colab., 2020). Sursa de carbon în mediul de îmbogățire a fost fenantrenul și pirenul (PHE și PY).

Analiza microscopică a culturii îmbogățite

După izolarea comunității de microorganisme HAP-oxidante, s-a efectuat o serie de analize microscopice. În cadrul acestui studiu s-au efectuat următoarele tipuri de microscopie:

- **Microscopia de contrast de fază – analiza culturii vii.**

Microscop: Zeiss Axio Scope.A1 (Zeiss, Germania)

- **Microscopia de fluorescență (CARD-FISH/DAPI) – identificarea bacteriilor și archaea.**

Fixare: Paraformaldehydă (2%)

Sonde: *EUB3881*, *ARCH915* și *nonEUB338*.

Permeabilizare: Lizozim, Achromopeptidază P, Proteinază K.

Tiramide: Alexa594

Microscop: Axio Imager Z2 (Zeiss, Germania)

- **Microscopia electronică de scanare (SEM) – identificarea adaptărilor fizilogice a bacteriilor în raport cu HAP.**

Deshidratare: Leica EM CPD300 (critical point drying)

Microscop: Zeiss Merlin VP Compact (Zeiss, Germania)

Identificarea taxonomică a culturii îmbogățite HAP-oxidante pe baza secvenței genei *ARNr 16S*

ADN bacterian a fost obținut cu kit-ul ZR Fungal/Bacterial DNA Miniprep (Zymo Research, SUA). Gena *ARNr 16S* a fost amplificată cu amorsele forward 27F și reverse 1492R. Ampliconii a fost clonați în vectorul pJET1.2 cu ajutorul kit-lui CloneJET PCR Cloning Kit (ThermoFisher Scientific, SUA). ADN plasmidic a fost purificat și tăiat cu ZR Plasmid Miniprep (Zymo Research, SUA) și ThermoFisher Scientific, SUA) respectiv. Ulterior, secvențele au fost supuse unei secvențializări Sanger.

Analiza transcriptomică

Cultura îmbogățită a fost utilizată pentru analiza transcriptomică. Analizele microscopice explorative au arătat dominanța numerică a unui tip de bacterii. Etichetarea genei *ARNr 16S* a indicat că această bacterie aparține genului *Pseudomonas*. Date fiind aceste date, transcriptomul obținut a fost aliniat la un genom de *Pseudomonas stutzeri* 19MN4 (NZCP0007509.1) cu ajutorul bibliotecii QuasR (Gaidatzis și colab., 2014). Variația nedorită a fost eliminată cu biblioteca RUVSeq (k=2) (Risso, Ngai și colab., 2014). Normalizarea a fost efectuată cu biblioteca EDASeq (Risso, Schwartz și colab., 2011). Analiza diferențială a fost calculată cu ajutorul bibliotecii DESeq2 (Love și colab., 2014).

Crearea algoritmului NLP și construcția bazei de date textuale

Materialele științifice au fost colectate din corpul de articole științifice open-access S2ORC (Lo și colab., 2020). Materialele textuale (N=118) au fost analizate de algoritmul muddy_md. Acest algoritm este bazat pe bibliotecile spaCy, sciSpacy și baza de date NCBI Taxonomy (Honnibal și Johnson, 2015; Honnibal și Montani, 2017; Neumann și colab., 2019; Schoch și colab., 2020). Produsul generat de muddy_md reprezintă o serie

de tabele, ce conțin date referitoare la geologia, chimia și taxonomia afiliată cu vulcanii noroioși. Acest produs a fost utilizat la elaborarea bazei de date muddy_db.

Rezultate și discuții

Cultura HAP-oxidantă

În urma investigațiilor s-a izolat, în premieră, un tandem bacterian HAP-oxidant alcătuit din *Pseudomonas sp.* și *Pseudoxanthomonas sp.* (Figura 2). În prezența HAP, aceste bacterii dezvoltă o matrice polizaharidică. Acest aspect a fost observat în urma analizelor microscopice de tip SEM (Figura 3).

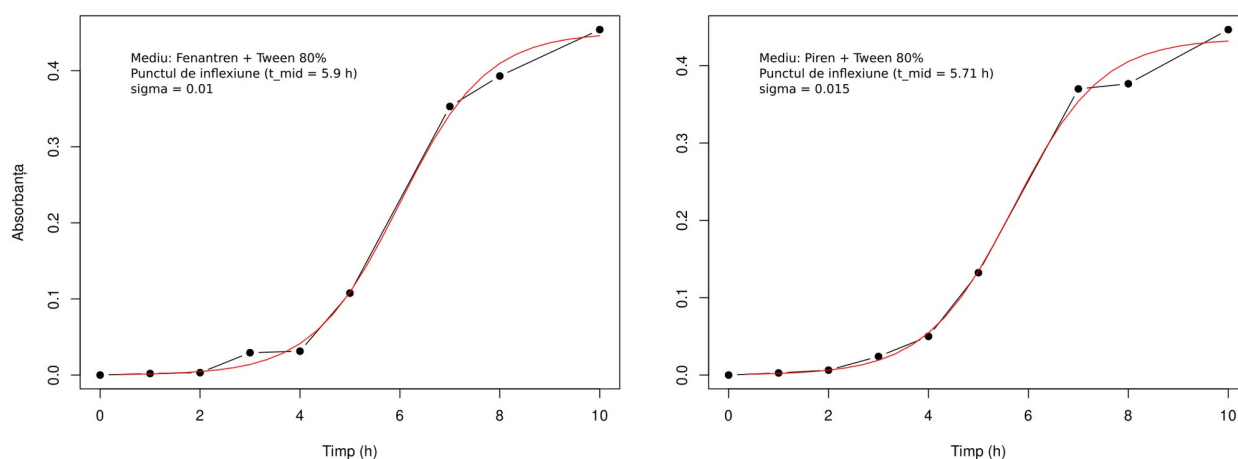


Figura 2. Curbele de creștere ale culturii HAP-oxidante crescute pe fenantren (PHE) sau piren (PY). Punctele de inflexiune nu prezintă diferențe majore, ceea ce denotă un metabolism similar indiferent de HAP cu diverse greutateți moleculare.

Analiza diferențială a genelor exprimate în specia dominantă a culturii HAP-oxidante - *Pseudomonas* sp.

Analizând transcriptomul bacteriei dominante *Pseudomonas* sp., crescute în mediu unde sursa de carbon este fenantrenul și pirenul, s-a observat că majoritatea genelor supraexprimate sunt legate direct și tangențial cu sinteza matricei polizaharidice și oxidarea HAP. Spre exemplu, genele responsabile de sinteza piocianinei (*aroK* și *pstP*) au fost supraexprimate de 6.1 și 3.03 ori față de control. Piocianina reprezintă un compus esențial în transportul electronilor în cadrul biofilmului (Xu și colab., 2005; Das și colab., 2012; Chen și colab., 2012. (Figura 4).

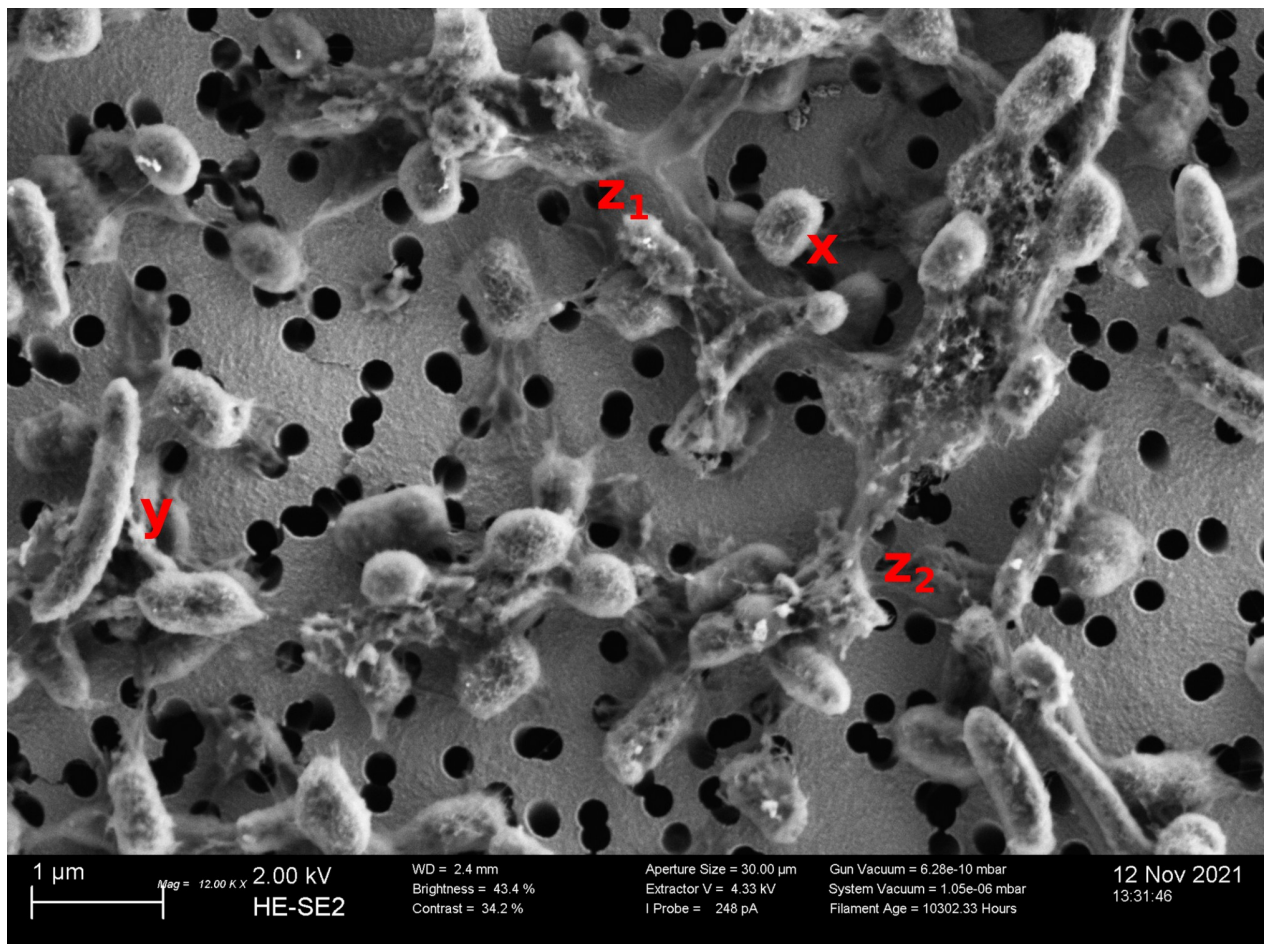


Figura 3. Cultura HAP-oxidantă vizualizată prin intermediul microscopului electronic (SEM). Imaginea relevă prezența atât a coco-bacililor *Pseudomonas* (x) cât și a bacililor *Pseudoxanthomonas* (y), bacterii care sunt înglobate într-o matrice polizaharidică (z1 , z2).

Mai mult decât atât, a fost observată influența vitaminelor asupra procesul de sinteză a matricei polizaharidice. Gena responsabilă de sinteza cobalaminei (*cobA*) a fost supraexprimată de 2-4 ori față de control. Sinteza abundentă a cobalaminei amplifică sinteza biofilmului (Warren și colab., 2002; Crespo și colab., 2018). Mai mult decât atât, acest studiu a evidențiat, pentru prima dată, cofactorii care ar putea fi inhibitori ai procesului de sinteză de polizaharide extracelulare și prin extensie a oxidării HAP. Datele transcriptomice obținute indică că genele responsabile de sinteza tiaminei (*thiL*) și riboflavinei (*ribA*) au fost puternic subexprimate (Webb și Downs, 1997; Fassbinder și colab., 2000). Gena *thiL* a fost subexprimate de 32 de ori și *ribA* de 12 ori respectiv. În afară de genele responsabile de sinteza vitaminelor, genele aferente motilității bacteriene (*cysE* și *carA*) au fost subexprimate de 2 și 16 ori respectiv (Sturgill și colab., 2004; Butcher și colab., 2016) (Figura 4).

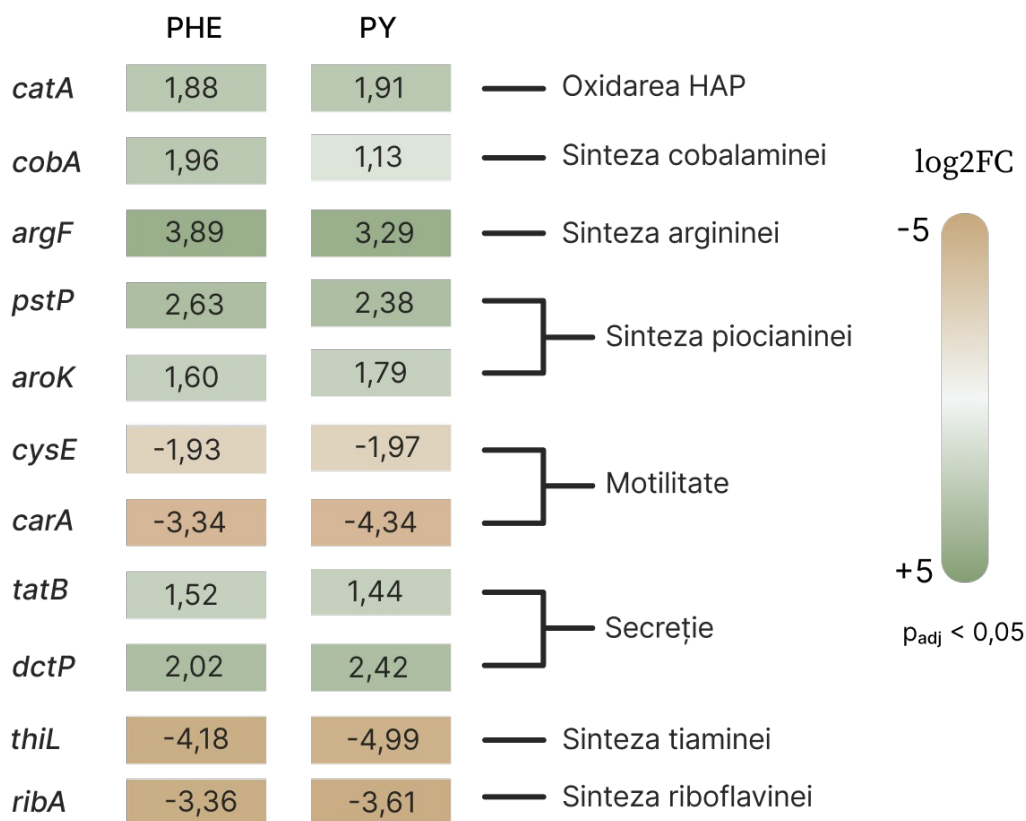


Figura 4. Analiza diferențială a genelor exprimate în *Pseudomonas* sp. log2FC - log2 fold change; PHE - fenantren; PY- piren.

Baza de date / aplicația web – muddy_db

Baza de date muddy_db a fost creată cu ajutorul algoritmului NLP muddy_mine. Baza de date / aplicația muddy_db este prima bază de date textuală axată exclusiv pe vulcanii noroioși. În comparație cu bazele de date biologice secvențiale, muddy_db extrage lexeme cu valoare biologică. Această bază de date include toate datele relevante studiului vulcanilor noroioși publicate în ultimii 20 de ani. Datele incluse în această bază de date au fost extrase din articole științifice open-access cu ajutorul unui noi algoritm, care este bazat pe ultimele tehnologii de Natural Language Processing (muddy_mine).

Pagina principală (MAP) a aplicației reprezintă o hartă interactivă unde poate fi vizualizată amplasarea geografică a vulcanilor noroioși. Fiecare înregistrare de pe harta interactivă cuprinde următoarele date: localizarea vulcanului noroios, titlul articolului unde a fost menționat vulcanul noroios, autorii articolului și numărul de identificare PMID. Pagina (ARTICLES) conține articolele datele referitoare la articolele folosite de muddy_mine și implicit pentru construcția bazei de date. Paginile (BACTERIA și ARCHAEA) conțin unitățile taxonomice extrase din articolele analizate. Paginile (MUD VOLCANO, GEOLOGY, METHODS) conțin lexemele geologice, terminologia tipică atribuită studiilor vulcanilor noroioși și metodele experimentale menționate în articole (Figura 5).

muddy_db - mud volcano database

118 TITLES MINED 20200705V1 SZORC VERSION EN CORE SCI SM SCISPACY MODEL 11.01.20 NCBI TAXONOMY VERSION 57 FULL ARTICLES

Mud volcano biological database
Database general information (mined articles)

Show 10 entries Search:

pmid	title	authors	year	Journals	doi	mined_level
1 18378658	Biogeochemistry and Community Composition of Iron- and Sulfur-Precipitating Microbial Mats at the Chefren Mud Volcano (Nile Deep Sea Fan, Eastern Mediterranean)	E. O. Omoregie et. al	2008	Applied and environmental microbiology	10.1128/aem.01751-07	full_body
2 22347218	A System for Incubations at High Gas Partial Pressure	Patrick Sauer et. al	2012	Frontiers in microbiology	10.3389/fmicb.2012.00025	full_body
3 12030850	Microbial community of a saline mud volcano at San Biagio-Belpasso, Mt. Etna (Italy)	Michail Yakimov et. al	2002	Environmental microbiology	10.1046/j.1462-2920.2002.00293.x	abstract
4 26394007	Activity and interactions of methane seep microorganisms assessed by parallel transcription and FISH-NanoSIMS analyses	Anne Dekas et. al	2016	The ISME Journal	10.1038/ismej.2015.145	full_body
5 20656812	Cesiribacter andamanensis gen. nov., sp. nov., isolated from a soil sample from a mud volcano	T. N. R. Srinivas et. al	2011	International journal of systematic and evolutionary microbiology	10.1099/ijse.0.025429-0	full_body
6 19622643	Belliella pelovolcani sp. nov., isolated from a mud-volcano in Taiwan.	A. Arun et. al	2009	International journal of systematic and evolutionary microbiology	10.1099/ijse.0.009753-0	full_body
7 27103730	Draft Genome Sequence of Methanococcus sediminis 53FaT, a Hydrogenotrophic Methanogen Isolated from a Submarine Mud Volcano in Taiwan	Sheng-Chung Chen et. al	2016	Genome announcements	NA	full_body
8 26282449	Multiple visions of Indonesia's mud volcano: understanding representations of disaster across discursive settings	Phillip Drake et. al	2016	Disasters	10.1111/disa.12145	abstract
9 29928689	Deep-biosphere methane production stimulated by geofluids in the Nankai accretionary complex	Akira Ijiri et. al	2018	Science advances	10.1126/sciadv.aao4631	full_body
10 21976991	Chemosymbiotic bivalves from the mud volcanoes of the Gulf of Cadiz, NE Atlantic, with descriptions of new species of Solemyidae, Lucinidae and Vesicomidae	Graham Olive et. al	2011	ZooKeys	10.3897/zookeys.113.1402	full_body

Showing 1 to 10 of 109 entries Previous 1 2 3 4 5 ... 11 Next

Open-access articles were extracted from SZORC created by Lo et al. 2020. CC BY-NC 2.0. unmodified. Versions: SZORC (20200705v1), spacy (2.3.2), Scispacy (0.3.0), NCBI taxonomy database (20 Nov. 2020).

Figura 5. Aplicația și baza de date muddy_db. Prima bază de date textuală axată pe vulcanii noroioși.

Concluzii

Cumulativ, se poate concluziona că vulcanii noroioși într-adevăr sunt medii prielnice pentru dezvoltarea bacteriilor HAP-oxidante. În cadrul acestui studiu a fost documentat pentru prima dată tandemul HAP-oxidant *Pseudomonas/Pseudoxanthomonas*. Mai mult decât atât, acest studiu a demonstrat că analiza bacteriilor hidrocarbonoclastice izolate din sedimentele vulcanilor noroioși poate oferi sugestii pentru elaborarea unor noi tehnologii axate pe bioremedierea solului sau contracararea medicală a biofilmelor. În mod specific, s-a evidențiat că riboflavina și tiamina ar putea fi cofactori implicați în inhibiția dezvoltării matricei polizaharidice extracelulare și a procesului de oxidare a HAP.

Baza de date textuală muddy_db elaborată pentru descrierea vulcanilor noroioși a validat datele microbiologice obținute în cadrul acestui studiu și a demonstrat utilitatea ei în efectuarea unor meta-studii.

Resurse informatice

Toate datele brute aferente acestui studiu au fost arhivate.

- Secvențele brute (număr de acces: PRJNA843935) obținute în urma analizei transcriptomice sunt disponibile la următorul link: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4587649>.
- Algoritmul bioinformatic aferent analizei transcriptomice este disponibil pe Github (https://github.com/TracyRage/rnaseq_pipeline)
- Secvențele genei *ARNr 16S* clonate sunt disponibile la următorul link: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6538838>.
- Toate imaginile microscopice sunt disponibile la următoarele link-uri: CARD-FISH/DAPI (<https://doi.org/10.5281/zenodo.4553960>) și SEM (<https://doi.org/10.5281/zenodo.5812226>).
- Codul sursă al algoritmului *muddy_mine* poate fi accesat la următorul link: https://github.com/TracyRage/muddy_mine.
- Codul sursă aferent aplicației *muddy_db* este disponibil pe Github (https://github.com/TracyRage/muddy_db).

Cuvinte cheie

bază de date textuală, HAP, hidrocarbonoclastic, pseudoxanthomonas, riboflavină, tiamină, vulcan noroios

Bibliografie

- Abdel-Shafy H și Mansour M. 2016, A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, **25**:(1), 107-123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>.
- Alain K, Holler T, Musat F, Elvert M, Treude T și Kruger, M. 2006, Microbiological investigation of methane- and hydrocarbon-discharging mud volcanoes in the Carpathian Mountains, Romania. *Environmental Microbiology*, **8**:(4). 574-590. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00922.x>
- Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Ostell J, Pruitt KD și Sayers EW. 2017, GenBank. *Nucleic Acids Research*, **46**:(D1), D41-D47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1094>
- Brown GR, Hem V, Katz KS, Ovetsky M, Wallin C, Ermolaeva O, Tolstoy I, Tatusova T, Pruitt KD, Maglott DR și Murphy TD. 2014, Gene: a gene-centered information resource at NCBI. *Nucleic Acids Research*, **43**:(D1), D36-D42. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1055>
- Butcher B, Chakravarthy S, D'Amico K, Stoos K și Filiatrault M. 2016, Disruption of the *carA* gene in *Pseudomonas syringae* results in reduced fitness and alters motility. *BMC Microbiology*, **16**:(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0819-z>
- Chen K, Dou J, Tang S, Yang Y, Wang H, Fang H și Zhou C. 2012, Deletion of the *aroK* gene is essential for high shikimic acid accumulation through the shikimate pathway in *E. coli*. *Bioresource Technology*, **119**, 141-147. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.100>
- Consortium U. 2014, UniProt: a hub for protein information. *Nucleic Acids Research*, **43**:(D1), D204-D212. <https://doi.org/10.1093/nar/gku989>

- Crespo A, Blanco-Cabra N și Torrents E. 2018, Aerobic vitamin B12 biosynthesis is essential for *Pseudomonas Aeruginosa* class II ribonucleotide reductase activity during planktonic and biofilm growth. *Frontiers in Microbiology*, **9**. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00986>
- Das T, și Manefield M. 2012, Pyocyanin promotes extracellular DNA release in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS ONE*, **7**:(10), e46718, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046718>
- Fassbinder F, Kist M și Bereswill S. 2000, Structural and functional analysis of the riboflavin synthesis genes encoding GTP cyclohydrolase II (*ribA*), DHBP synthase (*ribBA*), riboflavin synthase (*ribC*), and riboflavin deaminase/reductase (*ribD*) from *Helicobacter pylori* strain P1. *FEMS Microbiology Letters*, **191**:(2), 191-197. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09339.x>
- Gaidatzis D, Lerch A, Hahne F și Stadler M. 2014 QuasR: quantification and annotation of short reads in R. *Bioinformatics*, **31**:(7), 1130-1132. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu781>
- Honnibal M și Johnson M. 2015, Proceedings of the 2015 Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing, *Association for Computational Linguistics*, <https://doi.org/10.18653/v1/d15-1162>
- Honnibal M și Montani I. 2017, spaCy 2: Natural language understanding with Bloom embeddings, convolutional neural networks and incremental parsing, To appear.
- Keith L. 2014, The Source of U.S. EPA's sixteen PAH priority pollutants. polycyclic aromatic compounds, **35**:(2-4), 147-160. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.892886>

- Lo K, Wang L, Neumann M, Kinney R și Weld D. 2020, Proceedings of the 58th Annual Meeting of the Association for Computational Linguistics, *Association for Computational Linguistics*, <https://doi.org/10.18653/v1/2020.acl-main.447>
- Love M, Huber W și Anders S. 2014, Moderated estimation of fold change and dispersion fo RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, **15**:(12). <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Mazzini A și Etiopie G. 2017, Mud volcanism: An updated review. *Earth-Science Reviews*, **168**, 81–112, **168**, 81–112. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2017.03.001>
- Neumann M, King D, Beltagy I și Ammar W. 2019, Proceedings of the 18th BioNLP Workshop and Shared Task, *Association for Computational Linguistics*. <https://doi.org/10.18653/v1/w19-5034>
- Risso D, Ngai J, Speed T și Dudoit S. 2014, Normalization of RNA-seq data using factor analysis of control genes or samples. *Nature Biotechnology*, **32**:(9), 896–902. <https://doi.org/10.1038/nbt.2931>
- Risso D, Schwartz K, Sherlock G și Dudoit S. 2011, GC-content normalization for RNA-Seq data. *BMC Bioinformatics*, **12**:(1), 480. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-480>
- Schoch C, Ciufu S, Domrachev M, Hotton C, Kannan S, Khovanskaya R, Leipe D, Mcveigh R, O'Neill K, Robbertse B, Sharma S, Soussov V, Sullivan J, Sun L, Turner S și Karsch-Mizrachi I. 2020, NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Sturgill G, Toutain CM, Komperda J, O'Tool G, Rather PN. 2004, Role of CysE in Production of an Extracellular Signaling Molecule in *Providencia stuartii* and *Escherichia coli*: Loss of *cysE* Enhances Biofilm Formation in *Escherichia coli*.

Journal of Bacteriology, **186**:(22). <https://doi.org/10.1128/jb.186.22.7610-7617.2004>

Vandenbroucke M și Largeau C. 2007, Kerogen origin, evolution and structure. *Organic Geochemistry*, **38**:(5), 719-833. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2007.01.001>

Webb E și Downs D. 1997, Characterization of thiL, encoding thiamin-monophosphate kinase in *Salmonella typhimurium*. *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 25. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.272.25.15702>

Warren MJ, Raux E, Schubert HL și Escalante-Semerena JC. 2002, The biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B12). *Natural Product Reports*, **19**:(4), 390-412. <https://doi.org/10.1039/b108967f>

Xu H, Lin W, Huiming X, Shuwa L, Yingli Y, Hongming B, Fing Z, Xiuming B, Yanglin S și Per QM. 2005, Influence of ptsP gene on pyocyanin production in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters*, **253**:(1), 103-109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.09.027>

Yin C, Xiong W, Qiu H, Peng W, Deng Z, Lin S și Liang R. 2020, Characterization of the phenanthrene-degrading *Sphingobium yanoikuyae* SJTF8 in heavy metal co-existing liquid medium and analysis of its metabolic pathway. *Microorganisms*, **8**:(6), 946. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060946>

