



VI Reunião Paranaense de Ciência do Solo-RPCS

28 A 31 DE MAIO DE 2019

PONTA GROSSA - PR

COMBINAÇÃO DE LINHAGENS DE *Bacillus* VISANDO AO AUMENTO DA EFICIÊNCIA DE DEGRADAÇÃO DO HERBICIDA SULFENTRAZONE

Amanda Flavia da Silva Rovida¹; Priscila Kuhn Alves Paula²; Luiz Ricardo Olchanheski²; Janaina Emiliano³; Elizangela Paz Oliveira¹; Gessica da Costa²; Paloma Nathane Nunes de Freitas²; Sônia Alvim Veiga Pileggi²; Marcos Pileggi².

RESUMO: O herbicida Boral 500SC, contendo o princípio ativo sulfentrazone, atua inibindo a enzima protox, importante para a formação da clorofila. Por ser de difícil degradação, é altamente persistente no solo, diminuindo a produtividade em sistemas de rotação de culturas. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência na degradação do sulfentrazone por conjuntos de linhagens bacterianas em relação a linhagens puras. Bactérias foram isoladas de solo já tratado com Boral 500SC e, por meio de cromatografia líquida, verificou-se que um grupo de quatro linhagens pertencentes ao gênero *Bacillus* degradaram 50% do sulfentrazone. Contudo, apenas a linhagem *B. megaterium* S35 apresentou taxa de degradação significativa de 20%, tendo assim a rota inicial de degradação do sulfentrazone obtida por meio de espectrometria de massas, enquanto que as taxas de degradação das demais linhagens ficaram abaixo de 1%. Desta maneira, a degradação de sulfentrazone por conjuntos bacterianos se mostrou mais eficiente do que por linhagens puras, sugerindo uma cooperação metabólica entre as mesmas que pode ser explorada em processos de biorremediação de solos agrícolas.

PALAVRAS-CHAVE: biorremediação; adaptação; sistema de respostas.

INTRODUÇÃO

O herbicida Boral 500SC, cujo princípio ativo é o sulfentrazone, foi desenvolvido para o controle de espécies variadas de plantas daninhas, principalmente em pré-emergência, inibindo a enzima protoporfirinogênio oxidase (prototox), intermediário essencial na biossíntese da clorofila (REDDY & LOCKE, 1998).

A persistência do sulfentrazone, aplicado na cultura da soja, foi determinada em 376 dias, sendo tóxico para algumas culturas subsequentes e para alguns microrganismos simbiotes importantes de plantas (BLANCO & VELINI, 2005). A biodegradação deste

¹Departamento Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá. ²Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética, Universidade Estadual de Ponta Grossa. ³Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina.



VI Reunião Paranaense de Ciência do Solo-RPCS

28 A 31 DE MAIO DE 2019

PONTA GROSSA - PR

herbicida é difícil, sendo encontrados baixas taxas, como a de 4 a 15% entre isolados de *Pseudomonas* (MELO et al., 2017). O sulfentrazone tem a capacidade de produzir estresse oxidativo em diferentes organismos (FREITAS et al., 2017), o que pode levar a um aumento significativo de espécies reativas de oxigênio (ERO), interferindo na metabolização de herbicidas (MONQUERO et al., 2010).

Nesse contexto, foi avaliada a combinação de linhagens de *Bacillus* tolerantes ao sulfentrazone em degradar este herbicida, em comparação com as linhagens isoladamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de solo foram coletadas no distrito de Papagaios Novos (Palmeira/PR) (25°24'02.3"S 50°08'58.2"W), sendo dez pontos de coleta distintos retirados de profundidades de 5 a 10 cm, onde já havia sido aplicado o herbicida Boral 500SC (500 g L⁻¹ de Sulfentrazone). Foi realizado o isolamento das linhagens bacterianas em Ágar Lúria – LA, e incubadas a 30 °C por 24h.

As linhagens com capacidade de tolerar o herbicida Boral 500SC foram selecionadas para determinar a capacidade de degradar o princípio ativo sulfentrazone, sendo determinado por HPLC (Waters Alliance e2695) com detector fotodiodo. O gradiente da fase móvel foi iniciado com 70% água (0,1% ácido fórmico) (A) 30% acetonitrila (B); 30% B em 3min; 55% B em 15min; 100% B em 17min; 100% B em 18min; 30% B em 19min e 30% B em 29min. O volume de corrida foi de 1mL/min⁻¹. O volume de injeção das amostras foi de 50 µL.

Foi realizado a determinação dos metabólitos da linhagem com capacidade de degradar o herbicida sulfentrazone por meio de LC-MS/MS. Os parâmetros de configurações utilizados para detecção dos íons moleculares foram 338 m/z (modo negativo) e 340 m/z (modo positivo).

As linhagens selecionadas foram identificadas por meios da amplificação do gene 16S rRNA utilizando primers universais FD1 e RD1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos 114 isolados obtidos do solo que fora tratado com sulfentrazone, foram montados nove conjuntos para análises de degradação em HPLC. Destes, apenas



VI Reunião Paranaense de Ciência do Solo-RPCS

28 A 31 DE MAIO DE 2019

PONTA GROSSA - PR

um apresentou uma taxa de degradação mais significativa, 47%. Os isolados desse conjunto foram recombinados em subgrupos. Um destes, após análises em HPLC, apresentou uma taxa de degradação de 50%. Porém, analisando a capacidade de degradação dos isolados *B. megaterium* S29, *B. pumilus* S32, *B. megaterium* S31 e *B. megaterium* S35, apenas o último apresentou uma taxa de degradação mensurável, de 20%.

Estes resultados indicam a possibilidade de um consórcio metabólico entre essas 4 linhagens bacterianas, cada uma contribuindo com enzimas complementares para a degradação do sulfentrazone. Segundo Verma et al. (2014), consórcios microbianos tem maior capacidade de degradação de agroquímicos em ambientes contaminados.

O espectrograma obtido após 24 h de incubação da linhagem *B. megaterium* S35 em meio contendo sulfentrazone indica a presença, entre diversos metabólitos possivelmente originários da degradação deste herbicida, da molécula de peso molecular de 341,2 (Fig. 1). Baixas taxas de degradação podem explicar a alta persistência de sulfentrazone em solos, como descrito por Martinez et al. (2008) e Monquero et al (2010). A degradação de xenobióticos feita também por meio de consórcios microbianos indígenas tem potencial para ser uma tecnologia aplicada em biorremediação (VERMA et al., 2014).

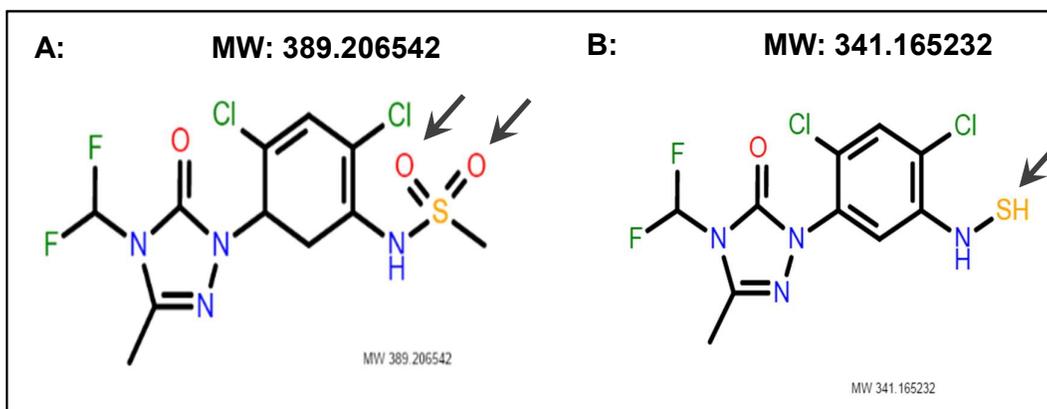


Figura 1: A: Estrutura e peso molecular do herbicida Sulfentrazone. B: Estrutura e peso molecular do provável metabólito do herbicida Sulfentrazone, obtido por LC-MS/MS a partir da degradação da linhagem *B. megaterium* S35. (Figuras: www.chemspider.com).

CONCLUSÕES

As linhagens bacterianas demonstraram potencial de degradação do herbicida sulfentrazone, sendo que uma estratégia avaliada neste trabalho, para ampliar a taxa de



VI Reunião Paranaense de Ciência do Solo-RPCS

28 A 31 DE MAIO DE 2019

PONTA GROSSA - PR

degradação deste herbicida, foi formação de consórcios bacterianos tolerantes. Por meio de espectrometria de massas foi sugerida uma rota inicial de degradação do princípio ativo sulfentrazone pela linhagem *B. megaterium* S35, única que conseguiu manter taxas de degradação mensuráveis. A maior eficiência do conjunto bacteriano selecionado em degradar o sulfentrazone e a caracterização metabólitos indicam os impactos deste trabalho no entendimento da ecologia de solos contaminados e da biorremediação.

REFERÊNCIAS

BLANCO FMG, VELINI ED. Persistência do herbicida sulfentrazone em solo cultivado com soja e seu efeito em culturas sucedâneas. **Planta Daninha**. 2005; 23:693-700.

MARTINEZ CO, SILVA CMM, FAY EF, MAIA ADHN, ABAKERLI RB, DURRANT LR. Degradation of the herbicide sulfentrazone in a Brazilian TypicHapludox soil. **Soil Biology & Biochemistry**. 2008; 40:879-886.

MELO CAD, MASSENSINI AM, PASSOS ABRJ, CARVALHO FP, FERREIRA LR, SILVA AA, COSTA MD. Isolation and characteristics of sulfentrazone-degrading bacteria. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**. 2017; 52:115-121. DOI: 10.1080/03601234.2016.1248136.

FREITAS JS, TERESA FB, ALMEIDA EA. Influence of temperature on the antioxidant responses and lipid peroxidation of two species of tadpoles (*Rhinella schneideri* and *Physalaemus nattereri*) exposed to the herbicide sulfentrazone (Boral 500SC®). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**. 2017; 197:32-44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.04.005>.

MONQUERO PA, SILVA PV, SILVA HIRATA AC, TABLAS DC, ORZARI I. Leaching and persistence of sulfentrazone and imazapic. **Planta Daninha**. 2010; 28:185-195.

REDDY KN, LOCKE MA. Sulfentrazone sorption, desorption, and mineralization in soils from two tillage systems. **Weed Science**. 1998; 46:494-500.

VERMA JP, JAISWAL DK, SAGAR R. Pesticide relevance and their microbial degradation: a state of art. **Reviews in Environmental Science and Bio Technology**. 2014; 13:429-466.