

Monitoramento da biodegradação de pesticidas por micro-organismos simbiotes do inseto praga *D. speciosa* utilizando CGxCG-TOF/MS

Eliane M. Lima (PG)¹, Bruno Perlatti (PG)¹, Tadeus Gorecki (PQ)², Matthew K. Edwards (PQ)², Maria F. G. F. Silva (PQ)¹, João B. Fernandes (PQ)¹, Moacir R. Forim (PQ)^{1*}

¹ Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos - CP 676, 13565-905, São Carlos, SP; ² Department of Chemistry, University of Waterloo, 200 University Ave, N2L 3G1, Waterloo-ON, Canada.

*mrforim@gmail.com

Palavras Chave: Pesticidas, micro-organismos, CGxCG-TOF/MS

Introdução

Micro-organismos estabelecem simbiose com insetos trazendo benefícios tais como proteção contra inimigos naturais, fornecimento de nutrientes essenciais e até resistência a pesticidas. Um dos mecanismos de aquisição de resistência a pesticidas por insetos está relacionada à rápida adaptação a xenobióticos causada pelos micro-organismos simbiotes por meio do estabelecimento de rotas metabólicas que levam a degradação desses compostos¹. Esta simbiose impacta na necessidade de aumento de dosagens, implicando em aumento dos impactos ambientais e no desenvolvimento de novos pesticidas. Assim, o estudo dessa simbiose inseto/micro-organismo pode levar ao desenvolvimento de novos mecanismos para controle de insetos pragas bem como a identificação de cepas microbianas que possam ser aplicadas em processos de biorremediação. No entanto, uma análise eficaz desses pesticidas pode ser dificultada devido ao alto grau de complexidade da matriz. Logo, a cromatografia multidimensional caracteriza-se como uma técnica inovadora e de grande utilidade nesse tipo de análise. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi isolar e identificar cepas bacterianas do trato digestivo de inseto praga *Diabrotica speciosa* e avaliar sua capacidade para degradação de pesticidas por CGxCG-TOF/MS.

Resultados e Discussão

Os micro-organismos foram isolados do inseto e identificados pelos métodos de PCR e MALDI^{2,3}. Foram selecionados para o experimento somente aquelas bactérias que apresentaram crescimento em meio contendo os pesticidas carbofuran, Chlorpyrifos, cipermetrina e fipronil sendo *Stenotrophomonas maltophila*, *Sphingobacterium multivorum*, *Empedobacter brevis* e *Enterobacter cloacae*. Como mostra a Figura 1, somente a bactéria *S. multivorum* apresentou variação significativa na fase de crescimento *log* sendo mais lento quando comparado ao controle. As demais bactérias foram capazes de se desenvolverem normalmente mesmo na presença dos pesticidas.

As análises foram realizadas num sistema GCxGC da Agilent 6890 (G1530A) equipado com um modulador, injetor automático 7683 (G2631A) e 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

acoplado a um espectrômetro de massas Pegasus III TOF/MS Mod 614-100-600.

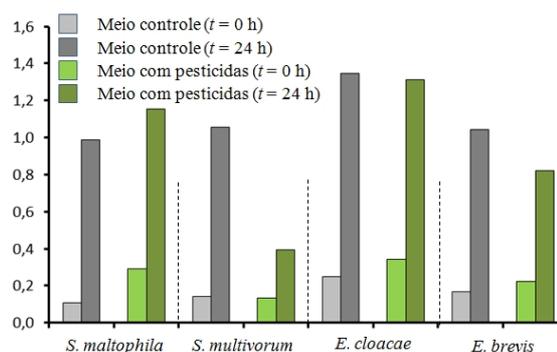


Figura 1. Comparação do crescimento bacteriano em meio controle e meio contendo os pesticidas investigados.

Contudo, sob as condições de cultivo aplicadas, somente a *S. maltophila* e *E. cloacae* foram capazes de degradar parcialmente o carbofuran (18 e 19%, respectivamente) sendo que a primeira, também levou a degradação parcial do chlorpyrifos (30%) e cipermetrina (37%). As bactérias *E. cloacae* e *E. brevis* degradaram parcialmente o fipronil (11% cada) em um período de 96 h (Tabela 1). *S. multivorum*, cepa que apresentou um crescimento tardio, também não apresentou ação sobre os pesticidas avaliados.

Tabela 1. Percentagem de degradação de pesticidas determinado por CGxCG-TOF/MS.

	Carbofuran	Chlorpyrifos	Cipermetrina	Fipronil
<i>S. Maltophila</i> ^a	18	30	37	0
<i>S. multivorum</i> ^a	2	0	0	0
<i>E. cloacae</i> ^b	19	3	0	11
<i>E. brevis</i> ^d	4	4	0	11

^a período de 72 h; ^b período de 96 h

Conclusões

O inseto *D. speciosa* apresentou micro-organismos simbiotes que foram capazes de degradar parcialmente alguns dos inseticidas avaliados. Essas bactérias podem estar envolvidas em mecanismo de defesa do inseto contra produtos xenobióticos sendo um novo alvo para controle populacional de insetos a ser estudado.

Agradecimentos

CNPq (477051/2012-0), PPG-Q/DQ-UFSCar, FAPESP (2011/11860-5; 2013/13649-5)

¹ Kikuchi, Y., Hayatsu, M., Hosokawa, T., Nagayama, A., Tago, K., Fukatsu, T. *PNAS*. 2012, 109, 8618; ² Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. *Proc Nat Acad Sci*. 1977, 74, 5463; ³ Welker, M.; Moore, E. R. B. *Syst. App. Microb.* 2011, 34, 2.