

Biodegradação do herbicida Totril® por micro-organismos isolados de solos impactados

Amanda R. M. da Silva (IC) e Cintia D. F. Milagre (PQ)*

cmilagre@rc.unesp.br

Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Campus Rio Claro, Av. 24A, 1515, 13506-900, Rio Claro, SP.

Palavras Chave: biodegradação, enzimas, herbicidas, octanoato de ioxinila

Introdução

O octanoato de ioxinila (1), Totril®, é um herbicida indicado para o controle das plantas daninhas que infestam as culturas de alho e cebola. O Totril® é uma benzonitrila tóxica, nociva à saúde humana e pode causar contaminação ambiental.¹ O objetivo deste trabalho é isolar micro-organismos de solos impactados com o Totril® e realizar estudos quanto à sua capacidade em biodegradar o herbicida.

Resultados e Discussão

Foram isolados 29 micro-organismos de amostras de solos em quatro Fazendas de Cebolas na cidade de São José do Rio Pardo, um dos principais produtores de cebola do estado de São Paulo. Estes micro-organismos foram isolados utilizando-se meio de cultura seletivo (Ágar nutriente acrescido de Totril®). Como as principais vias de biodegradação de benzonitrilas nos micro-organismos são os sistemas enzimáticos nitrila hidratases (NHases)/amidases e nitrilases (Nases) (Figura 1) foi realizado um ensaio enzimático para a triagem dos micro-organismos produtores de destas enzimas.

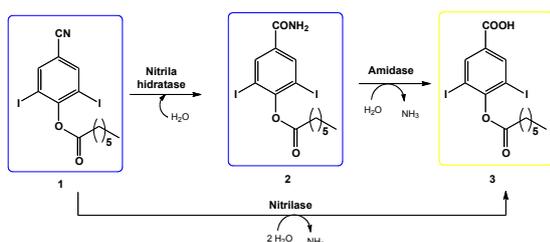
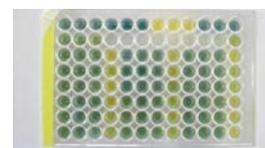


Figura 1. Biodegradação do Totril® catalisada pelas enzimas nitrila hidratase, amidase e nitrilase.

Como a maioria dessas enzimas são indutivas, ou seja, são sintetizadas pelas células apenas na presença de seu substrato, realizou-se a indução enzimática com o próprio Totril®. Os micro-organismos foram submetidos à triagem enzimática por análise colorimétrica em formato miniaturizado (microplaca de 96 poços, 200 µL de reação). Neste ensaio uma suspensão microbiana em tampão fosfato pH 7,2 acrescida do Totril® e azul de bromotimol como indicador de pH foi monitorada

visualmente quanto à formação de ácido carboxílico (viragem do azul para amarelo) após a incubação da microplaca (Figura 2). Para verificar as prováveis origens da degradação da benzonitrila, realizou-se ensaios paralelos adicionando-se um inibidor de amidases (dietilaminofosforamida).

Figura 2. Triagem enzimática de nitrila hidratases/amidases e nitrilases utilizando-se o Totril® (1).



Após 7 dias de incubação foi possível observar a o início da biodegradação do Totril®. Foram obtidos 12 hits positivos para micro-organismos contendo os sistemas enzimáticos Nases e NHase/amidases (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados positivos da triagem enzimática dos 29 micro-organismos isolados do solo impactado com Totril®.

Micro-organismo	Sistema enzimático	Micro-organismo	Sistema enzimático
P2CB3	Nase	P7CT5	Nase
P2CT3	Nase	P8CTD3	Nase
P3CPB4	Nase	P8CBC6	Nase
P5CRA4	Nase	P8CB3	Nase
P5CTS5	NHase/Amidase	P8CT5	Nase
P6CB5	Nase	P8CT3	Nase

Os resultados acima foram confirmados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID).

Conclusões

Foram selecionados 12 micro-organismos potencialmente promissores para a biodegradação de herbicidas do Totril®. Testes toxicológicos com os metabólitos gerados estão em andamento.

Agradecimentos

À FAPESP e ao eng. agrônomo David Moreira pela ajuda com a coleta de amostras de solo.

¹ Veselá, A. B.; Franc, M.; Pelantová, H.; Kubác, D.; Vejvoda, V.; Sulc, M.; Bhalla, T. C.; Macková, M.; Lovecká, P.; Janu, P.; Demnerová, K.; Martinková, L. *Biodegradation* **2010**, *21*, 761-770.