

Avaliação da degradação de picloram por bactérias produtoras de biossurfactante



<https://doi.org/10.56238/tecnolocienagrariabiosoci-051>

Carlos Eduardo Soares

Graduação em Ciências Agrárias
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
(Unifesspa), Marabá, Pará, Brasil
Faculdade de Ciências Agrárias, Instituto de Estudo em
Desenvolvimento Agrário e Regional
E-mail: carlos.esoares@unifesspa.edu.br

Sebastião da Cruz Silva

Doutorado em Química
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
(Unifesspa), Marabá, Pará, Brasil
Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas
E-mail: simotesilva@unifesspa.edu.br

Simone Yasue Simote Silva

Doutorado em Química
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
(Unifesspa), Marabá, Pará, Brasil
Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas
E-mail: simote@unifesspa.edu.br

Sidnei Cerqueira dos Santos

Doutorado em Biotecnologia
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
(Unifesspa), Marabá, Pará, Brasil
Faculdade de Biologia, Instituto de Estudos em Saúde e
Biológicas
E-mail: sidnei.cerqueira@unifesspa.edu.br

RESUMO

Dentre os herbicidas utilizados na agricultura brasileira, o picloram é um dos mais utilizados no controle pré-emergência e pós-emergência das

plantas daninhas, especialmente de dicotiledôneas arbustivas e arbóreas. Entretanto, o picloram pode ser transportado, transformado ou acumulado nas camadas fértil do solo, causando impacto ambiental. Estes riscos têm despertado o interesse científico pelo desenvolvimento de métodos de biorremediação de solos contaminados com herbicidas, tendo como alternativa a degradação microbiana. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a tolerância e a degradação do herbicida picloram por linhagens bacterianas (BM01 e BM02) produtoras de biossurfactante, visando selecionar potencial agentes biorremediadores. Os testes de degradação bacteriana do picloram foram avaliados pelo método pour plate e cromatográfico. Para avaliar a tolerância das linhagens bacterianas ao herbicida, foi utilizado o método de microcultivo para determinar a concentração inibitória e bactericida mínima. A produção de biossurfactante (BS) foi realizada em meio salino mineral com diferentes concentrações de picloram, sendo avaliada através do índice de emulsificação. As linhagens BM01 e BM02 foram tolerantes a altas concentrações de picloram, porém, apresentaram baixo crescimento celular. As análises cromatográficas indicam que houve degradação parcial do herbicida e não foi observado a produção de BS. Novos estudos devem ser realizados para elucidar o processo de biodegradação do picloram associado a produção de BS.

Palavras-chave: Biodegradação, Herbicida, Microrganismos, Surfactante.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da agricultura moderna possibilitou atingir altas produtividades nos sistemas agrícolas, principalmente pelo uso de pesticidas para auxiliar no controle da infestação de plantas daninhas, porém, essas substâncias podem ocasionar transformações físicas e químicas no ambiente (ANDRIGHETTI et al., 2014; GAO et al., 2019).



Pesticidas são substâncias utilizadas no controle de insetos, roedores, fungos e ervas daninhas, podendo ser caracterizados como pragas quando causam prejuízos econômicos à agricultura ou a sociedade (MEDEIROS, 2021). A classificação dos pesticidas pode advir por diferentes fatores, como origem (orgânica ou inorgânica), estrutura química, toxicidade e uso. No entanto, a classificação mais comum leva em consideração o tipo de organismo alvo: algicida para algas, acaricida para ácaros, bactericida para bactérias, fungicida para fungos, herbicida para ervas daninhas, inseticidas para insetos e rodenticida para roedores (KUMAR, 2020).

Os herbicidas são utilizados para garantir o crescimento e desenvolvimento das culturas livres da interferência de plantas daninhas, vetores de doenças e pragas, além disso, aumentam a produtividade e a qualidade dos produtos agrícolas, reduz os desperdícios de alimentos estocados e os custos com mão-de-obra (ANDRIGHETTI et al., 2014).

O herbicida é o pesticida mais utilizado em ambiente agrícola no mundo, devido ao seu baixo custo para o controle de plantas espontâneas, sendo a classe dos mimetizadores de auxína uma das mais vendidas (ARAUJO, 2002). O ácido 4-amino 3,5,6 triclora-2-piridinacarboxílico, conhecido como picloram, é um herbicida auxínico de eficaz controle pré-emergência e pós-emergência das plantas daninhas, especialmente de dicotiledôneas arbustivas e arbóreas (PINHO et al., 2007).

A comercialização do herbicida picloram tem intensificado ao longo dos anos. Em 2020 foram comercializadas mais de 4 mil toneladas dessa formulação no Brasil, sendo o estado do Pará responsável por cercar de 27% dessa quantidade (IBAMA, 2020). Segundo Procópio (2008), o picloram é o herbicida registrado para uso em pastagens no Brasil que apresenta longa persistência no solo e atividade residual, impedindo ou reduzindo a emergência de plantas daninhas. A utilização de herbicidas pode causar efeitos nocivos ao meio ambiente, após ou no momento da aplicação no campo do agroquímico. Os herbicidas são capazes de ser transportados, transformados ou acumulados nas camadas fértil do solo, por infiltração ou lixiviação (STEFFEN et al., 2011), podendo se concentrar em cultivos periféricos mais sensíveis, na atmosfera e/ou em recursos hídricos subsuperficiais e superficiais (CORREIA, 2018), influenciando no crescimento da planta (fitotoxicidade) e causando desequilíbrio da biodiversidade do solo (STEFFEN et al., 2011). Estes riscos têm despertado o interesse científico pelo desenvolvimento de métodos de biorremediação de solos contaminados com herbicidas e compostos associados (LEONEL, 2018).

A biorremediação pode ser caracterizada como processo que reduz ou elimina compostos tóxicos em moléculas de menor toxicidade ou atóxica, usando plantas, microrganismos e/ou seus metabólicos (SVARTBERG et al., 2005). Atualmente, a remediação microbiana (fungos e bactérias) tem sido a mais estudada, pois os microrganismos são os principais agentes decompositores de matéria orgânica e desempenham papel essencial nos principais ciclos biogeoquímicos, além do baixo custo do processo (YIN et al., 2018), quando comparado com os métodos químicos tradicionais.



O processo microbiano de decomposição de compostos orgânicos é chamado de biodegradação (YIN et al., 2018). Neste processo, o composto contaminante pode ser oxidado integralmente a moléculas de ocorrência universal ou parcialmente, gerando compostos orgânicos mais simples (MELO; AZEVEDO, 2008).

Além das enzimas responsáveis pela oxidação dos compostos orgânicos, alguns microrganismos também produzem substâncias tensoativas conhecidas como biossurfactantes, que possuem função importante no processo de biodegradação. Biossurfactantes (BS) são moléculas anfílicas, apresentando uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica, com a capacidade de reduzir as tensões superficial e interfacial de líquidos miscíveis e imiscíveis, respectivamente, e com ação emulsificante. Esses metabólitos têm propriedades de aumentar a solubilidade e a disponibilidade de poluentes hidrofóbicos a outros organismos, aumentando o potencial de biodegradação (BENTO et al., 2003). Destaca-se ainda que os BS são biodegradáveis, não tóxicos ou menos tóxicos que surfactantes químicos (CLEMENTS et al., 2019) e são produzidos a partir de fontes renováveis (SANTOS et al., 2010, 2020).

Segundo Araújo (2002), a ação de microrganismos sobre os herbicidas constitui mecanismo da maior importância, pois a degradação microbiológica, na maioria dos casos, contribui para a dissipação da molécula no ambiente, podendo ser utilizada nos processos biológicos, como nos ciclos biogeoquímicos e na ciclagem de nutrientes. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a tolerância e a degradação do herbicida picloram por linhagens bacterianas (BM01 e BM02) produtoras de biossurfactante, visando selecionar potenciais agentes biorremediadores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LINHAGENS BACTERIANAS

As linhagens bacterianas produtoras de BS utilizadas neste estudo foram BM01 e BM02, isoladas do solo de áreas de mineração em processo de recuperação no estado do Pará, Brasil. As linhagens bacterianas foram caracterizadas como bacilos Gram-negativos, isolados, curtos e alongados (QUEIROZ; SANTOS, 2019) e estão mantidas em solução de glicerol a -20°C no Laboratório de Bioensaios e Bioprocessos (L@bio) da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa).

2.2 PREPARO DO INOCULO BACTERIANO

As linhagens bacterianas foram semeadas em placas de Petri contendo meio triptic soyer agar (TSA) e incubadas a 30°C por 24 h. Foi transferido uma alçada de cada colônia bacteriana para frascos de Erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 mL de meio salino mineral (MSM), previamente esterilizado (121°C por 20 minutos), com a seguinte composição (g/L): K_2HPO_4 , 1,2; Na_2HPO_4 , 0,45; NaNO_3 , 0,3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,06; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,006; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,006 (BODOUR; MILLER-MAIER, 1998); e



1% de glicerol. O pH foi ajustado para 7, usando HCl ou NaOH. Os frascos foram incubados em agitador orbital (Quimis – Q225M) a 30°C, 180 rpm, por 20 h, para o teste de oxidação do picloram.

2.3 OXIDAÇÃO BACTERIANA DO PICLORAM

A oxidação do picloram foi avaliada pelo método *pour plate*. Foi transferido para cada placa de Petri 1 mL do inóculo das linhagens bacterianas, 25 mL de MSM (contendo 2% de picloram como única fonte de carbono e 1,5% de agar) na temperatura de 45°C, previamente esterilizado (121°C por 20 minutos), e 1% de solução reveladora de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC), esterilizada por filtração. As placas foram homogeneizadas lentamente e, após a solidificação do MSM, foram incubadas na estufa a 30°C por 7 dias. A oxidação do picloram foi considerada positiva pela presença de colônias bacterianas rosa avermelhada na superfície do MSM.

2.4 TESTE DE TOLERÂNCIA AO PICLORAM

Para avaliar a tolerância das linhagens BM01 e BM02 ao picloram, foi utilizado o método da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM). A determinação da CIM foi realizada de acordo com as recomendações do National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003), em placa para cultivo de células de 96 poços, contendo diferentes volumes de caldo Muller-Hinton (CMH); solução mãe de picloram (38,8 mg/mL), nas concentrações de 0,19 a 7,76 mg/mL; e inóculo de 5 µL de cada linhagem bacteriana ajustado a partir da escala padrão de 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bactérias/poço), totalizando 200 µl em cada poço. A placa foi incubada a 30°C por 22 h, em seguida, foi adicionado 3 µL de TTC nos poços e incubado na estufa por mais 2 horas. Foi realizado o controle do CMH não inoculado com e sem picloram, e CMH inoculado (BM01 e BM02). A leitura foi realizada através da mudança de coloração da solução reveladora, considerando o resultado positivo a presença de coloração rosa ou avermelhada e negativo a ausência de coloração.

A CBM foi realizada com base nos resultados da CIM. Foi retirada uma alçada a partir dos poços que não apresentaram crescimento bacteriano com o auxílio da alça bacteriológica e semeada na superfície do meio TSA contido em placa de Petri, usando a técnica de estrias por esgotamento. A placa foi incubada na estufa a 30°C por 24 horas para avaliação de crescimento das colônias bacterianas.

2.5 EXTRATO BACTERIANO

Para obtenção dos extratos bacterianos, foi realizado uma partição líquido-líquido com acetato de etila. Inicialmente foi feita uma partição de 80 mL de MSM (picloram como fonte de carbono) das linhagens BM01 e BM02 e 40 mL de acetato de etila, que foram transferidos para um funil de separação, agitado levemente e deixado em repouso até separação das fases (orgânica e aquosa). Após



essa etapa, foi retirado a fase orgânica (fase superior) em um Erlenmeyer de 250 mL e a fase aquosa foi colocada no funil de separação para repetir o processo anterior (2 vezes). As fases orgânicas foram concentradas em evaporador rotativo e o extrato foi transferido para frascos previamente pesados. Os extratos obtidos foram designados como BM01i e BM02i, pois as extrações foram feitas no início do experimento, antes de inocular as linhagens bacterianas. Após 5 dias de incubação, foi realizado a extração líquido-líquido do cultivo das linhagens BM01 e BM02, o processo de obtenção dos extratos foi similar a etapa anterior e os extratos foram denominados BM01f e BM02f, pois foram obtidos ao final do experimento. Todos os extratos foram armazenados na geladeira para posterior análise cromatográfica.

2.6 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

As análises dos extratos bacterianos foram realizadas no Laboratório de Análise Químicas da Faculdade de Química da Unifesspa, no cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC, Prominência Shimadzu LC-20AP), composto por duas bombas de solvente binário, um compartimento de coluna, um amostrador automático e um detector de matriz de diodos visíveis UV. Foi utilizada uma coluna analítica C18 (150 mm x 4,6 mm, partículas de 5 μ m) e uma coluna de guarda C18 (20 mm x 4,6 mm de diâmetro interno e partículas de 5 μ m). O volume de amostra injetado foi de 50 μ L e a temperatura da coluna foi mantida a 30°C.

Antes de realizar as análises, foi realizada a otimização do método, utilizando as seguintes eluições gradiente: 1) água ultrapura Milli-Q 0,5% de ácido fosfórico (solvente A) e acetonitrila (ACN, solvente B); e 2) água ultrapura Milli-Q 0,5% de ácido fosfórico (solvente A) e metanol (MeOH, solvente B); e a solução estoque de picloram (Nortox) na concentração de 0,5 g/L, utilizando acetonitrila (Grau HPLC) como solvente de solubilização. A partir da otimização do método, foi construído uma curva de calibração a partir de diluições sucessivas da solução estoque de picloram, obtendo-se ao final 8 concentrações: 0,1, 0,075, 0,06, 0,05, 0,025, 0,0125 e 0,00625 g/L, que foram injetadas no HPLC utilizando o seguinte método: 50% do solvente B (ACN ou MeOH) por 5 minutos, aumentando gradativamente para 90% em 10 min, com um fluxo de 1,0 mL/min. Os testes foram realizados em triplicata e os dados analisados no software LC-Solution. Essas condições foram usadas para obter uma melhor resolução para o picloram.

2.7 ATIVIDADE EMULSIFICANTE

A produção de BS foi realizada em frasco Erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de MSM, esterilizado a 121°C por 20 minutos. Após a autoclavagem, foi adicionado picloram como única fonte de carbono e energia (esterilizado por filtração), nas concentrações de 1,16, 3,88 e 7,76 mg/mL. O inóculo de 3% da suspensão bacteriana foi adicionado no Erlenmeyer, conforme ensaio de oxidação



bacteriana. O Erlenmeyer foi incubado no agitador orbital na rotação de 180 rpm, a 30°C por 4 dias. O crescimento bacteriano foi monitorado a cada 24 h, retirando alíquotas da cultura para medida da densidade óptica (600 nm) no espectrofotômetro.

A produção de biossurfactante foi avaliada através do índice de emulsificação (IE₂₄) (LUNA et al., 2013). Após o período de incubação, a cultura foi centrifugada a 4000 rpm por 30 minutos para obtenção do caldo livre de células. Dois mililitros de óleo mineral e 2,0 mL do caldo livre de células foram transferidos para tubos de ensaio (100 mm x 15 mm) e agitados no vórtex (Biomixer) por 2 minutos. Após 24 horas, o IE₂₄ foi calculado usando a seguinte fórmula: $IE_{24} (\%) = x / y \times 100$, onde x e y representam a altura da camada emulsificada (mm) e a altura total (mm), respectivamente. O controle foi realizado com o sobrenadante do MSM com picloram não inoculado e com MSM com glicerol inoculado (BM01 e BM02).

3 RESULTADOS

3.1 BIODEGRADAÇÃO DO PICLORAM

As linhagens BM01 e BM02 cresceram em MSM com 2% de picloram, formando uma camada vermelha de colônias agregadas na superfície do meio de cultura, devido a reação com o indicador TTC (Figura 1), após 48 h de incubação.

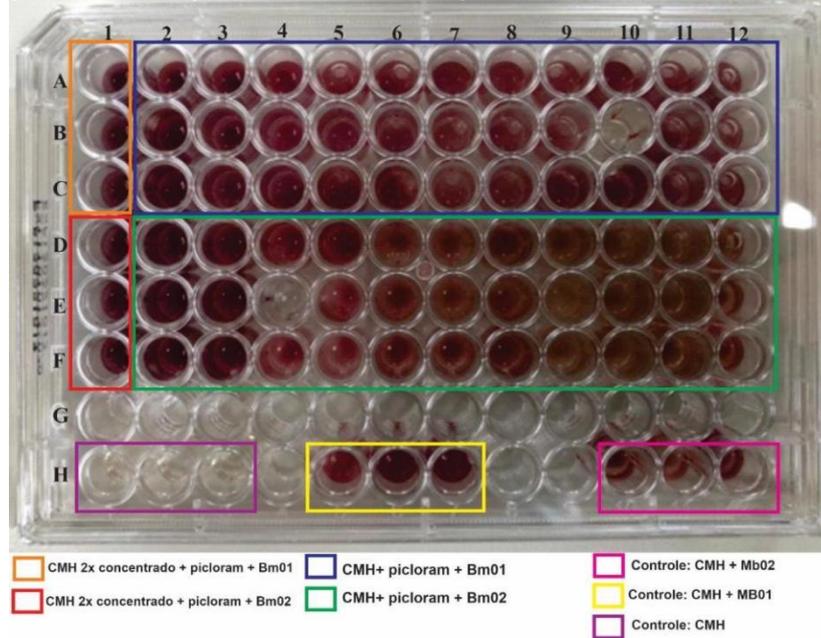
Figura 1. Crescimento das linhagens BM01 e BM02 em MSM com 2% de picloram.



Os resultados obtidos no teste de tolerância ao picloram demonstram que as linhagens BM01 e BM02 cresceram em todas as concentrações testadas, formando coloração avermelhada do meio de cultura (Figura 2). Os controles do CMH inoculados foram positivos e não houve crescimento nos controles do CMH não inoculado com e sem picloram (Figura 3). O crescimento das linhagens bacterianas foi confirmado no teste da CBM, havendo formação de colônias a partir do cultivo retirado dos poços contendo a maior concentração de picloram (7,76 mg/mL).



Figura 2. Determinação da concentração inibitória mínima do picloram no crescimento das linhagens BM01 e BM02.



A degradação bacteriana do picloram foi confirmada através da análise cromatográfica, utilizando como fase móvel a acetonitrila, pois apresentou melhor tempo de retenção do picloram em aproximadamente 5 minutos (Figura 3). Além da avaliação do melhor solvente, também foi selecionado o melhor comprimento de onda, sendo observado a maior absorção do picloram em UV 225 nm (Figura 4).

Figura 3. Cromatograma do picloram comercial obtido no modo gradiente e fase móvel H₂O acidificada/metanol (A) e fase móvel H₂O acidificada/acetonitrila (B).

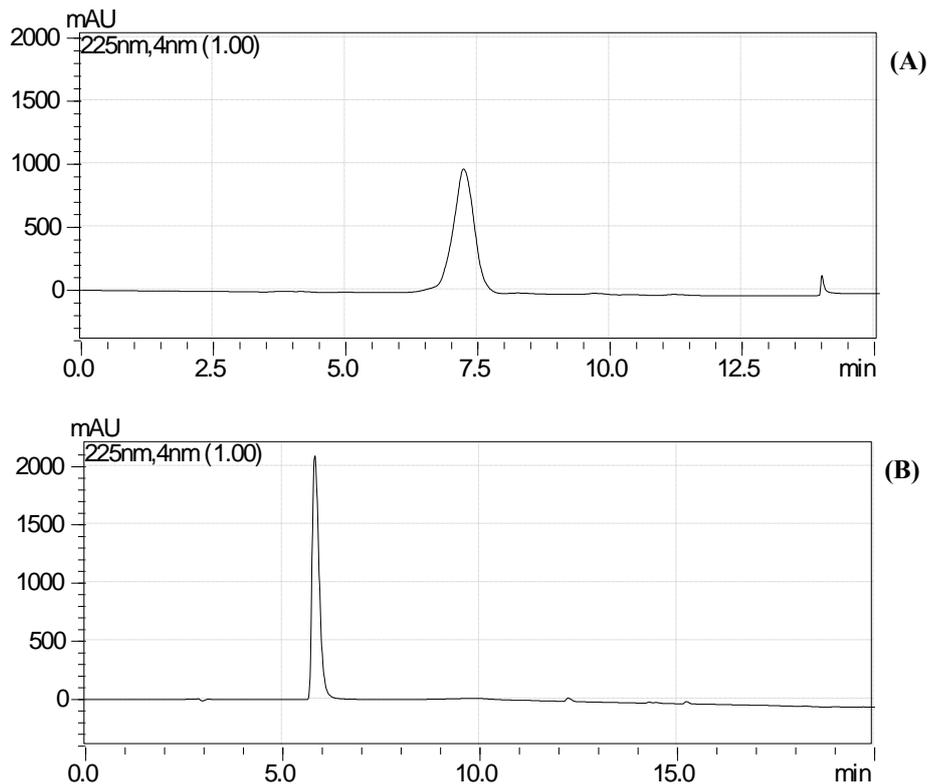
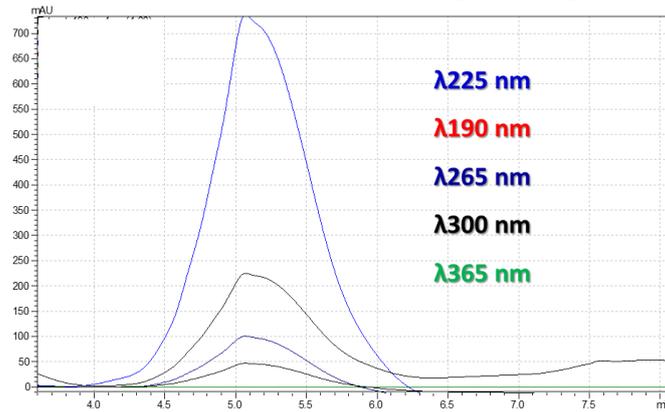


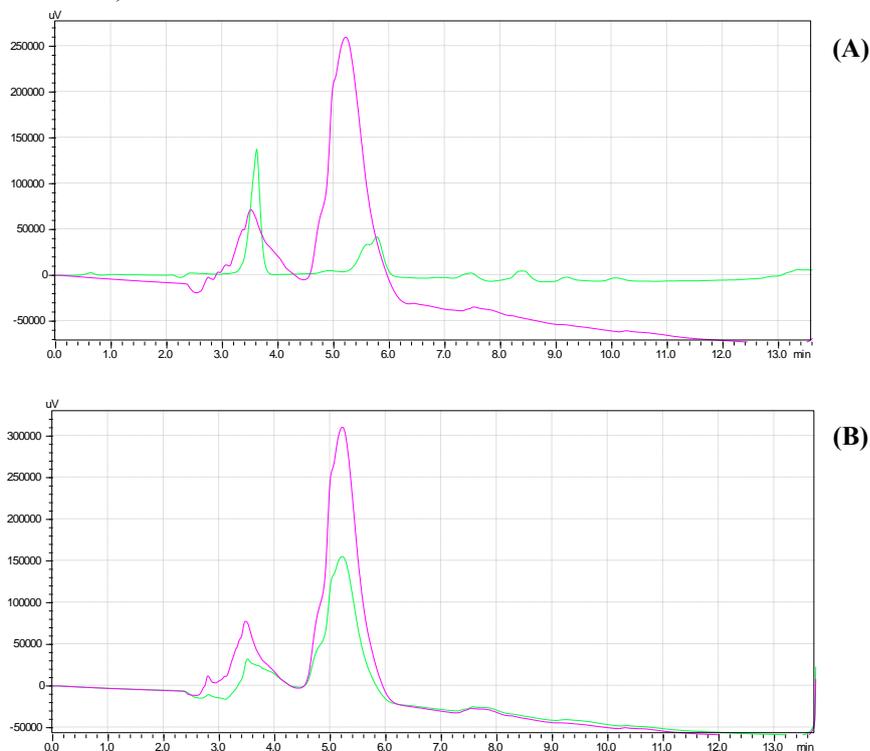


Figura 4. Espectro de UV de absorção da banda cromatográfica do picloram comercial (nm).



Nos extratos das linhagens BM01i e BM02i (fase inicial do experimento), foi observado que o picloram saiu no tempo de retenção em torno de 5 minutos, o que está de acordo com as análises feitas somente com o padrão comercial de picloram, quando estes cromatogramas são comparados com os cromatogramas obtidos do extrato na fase final do experimento (BM01f e BM02f), verifica-se que houve uma diminuição na intensidade do pico de picloram (Figura 5), levando-nos a inferir que houve um consumo e/ou degradação do picloram pelas bactérias.

Figura 5. Cromatograma do extrato da (A) linhagem BM01i (linha rosa) e BM01f (linha verde); e (B) linhagem BM02i (linha rosa) e BM02f (linha verde).

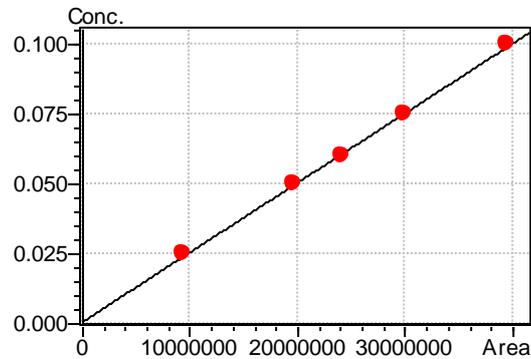


A curva de calibração obtida apresentou coeficiente de linearidade (R^2) de 0,9994 (Figura 6). No entanto, percebeu-se que o picloram eluiu com tempo de retenção de 10,5 minutos, diferente do



que foi pré-estabelecido (5 minutos), inviabilizando a realização das análises. Dessa forma, será necessário fazer uma nova curva para avaliar o que pode ter ocasionado a alteração no tempo de retenção, uma vez que foi utilizado as mesmas condições de análises.

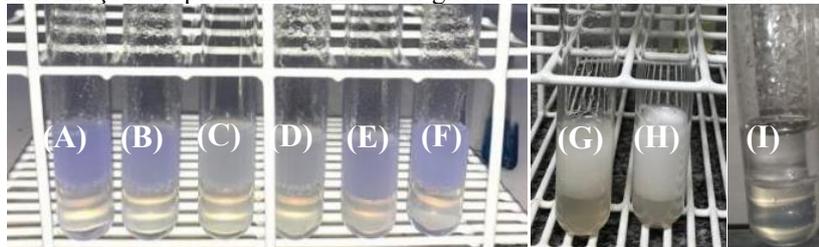
Figura 6. Curva de calibração do picloram (R^2 0,9994).



3.2 PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE

A produção de biossurfactante pelas linhagens BM01 e BM02 foi avaliada pelo método de índice de emulsificação, entretanto, não foi observado formação de emulsificado em nenhum dos ensaios utilizando picloram como única fonte de carbono, mas houve produção no controle com glicerol (Figura 7).

Figura 7. Determinação do índice de emulsificação do caldo livre de células das linhagens BM01 e BM02 cultivadas em MSM com diferentes concentrações de picloram e com 1% de glicerol como fonte de carbono.

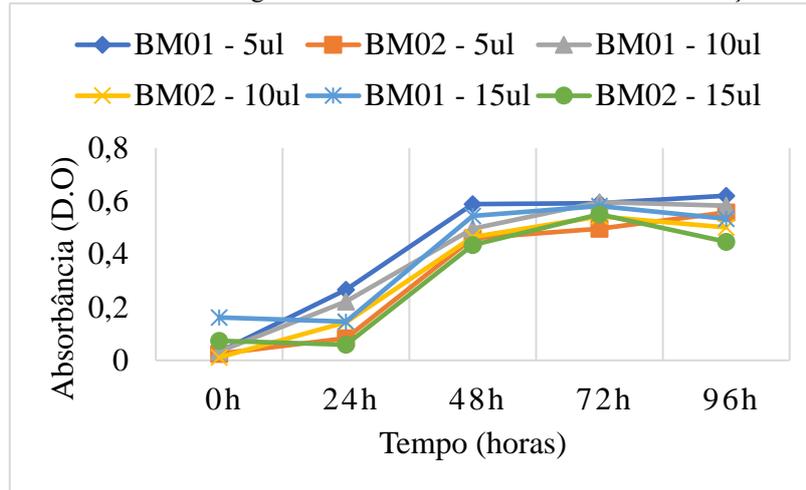


A) BM02 em MSM com 7,76 mg/mL de picloram; B) BM02 em MSM com 3,88 mg/mL de picloram; C) BM02 em MSM com 1,16 mg/mL de picloram; D) BM01 em MSM com 1,16 mg/mL de picloram; E) BM01 em MSM com 3,88 mg/mL de picloram; F) BM01 em MSM com 7,76 mg/mL de picloram; G) BM01 em MSM com 1% de glicerol; H) BM02 em MSM com 1% de glicerol; I) MSM não inoculado.

Foi observado uma baixa quantidade de biomassa celular das linhagens bacterianas em todos os testes de produção de biossurfactante, utilizando picloram como fonte de carbono, com o pico em 48h (Figura 8), porém, os controles da BM01 e BM02 em MSM com 1% de glicerol apresentou densidade óptica três vezes maior que os testes, 1.7 e 1.8, respectivamente (Dados não mostrados).



Figura 8. Crescimento das linhagens BM01 e BM02 em diferentes concentrações de picloram.



4 DISCUSSÃO

O picloram é amplamente utilizado no Brasil para controlar o crescimento de ervas daninhas e arbustos (IBAMA, 2020). Este herbicida é caracterizado por não se aderir bem às partículas do solo, por ser relativamente solúvel em água e apresentar baixa degradabilidade (PROCÓPIO, 2008), persistindo por muito tempo no ambiente, variando de 20 a 300 dias, com média estimada de 90 dias (GHAUCH, 2001).

A biodegradação de herbicidas ocorre geralmente por grupos de microrganismos específicos, capazes de sintetizar enzimas ou complexos enzimáticos envolvidas na hidrólise de compostos orgânicos, como o picloram (molécula xenobiótica e recalcitrante), transformado em produtos finais menos tóxicos ou não tóxicos para o ambiente (SOUZA et al., 2017). O processo de biodegradação de compostos orgânicos, como o picloram, pode ser parcial ou total, no primeiro é gerado como produto compostos intermediários, como ácido cloro-dihidroxi-4-amino-2-piridinocarboxílico, enquanto no total ocorre a mineralização do contaminante resultando em compostos simples, como CO₂, H₂O, NH₃, Cl, biomassa e energia (CRUZ, 2022).

Estudos mostram que a degradação microbiana do picloram é geralmente lenta e incompleta (MEIKLE et al., 1974; SADOWSKY et al., 2009). Sadowsky et al. (2009) observou que a levedura *Lipomyces kononenkoae* degradou parcialmente o picloram e não o usou como a única fonte de carbono, porém, o utilizou como única fonte de nitrogênio para o crescimento, gerando intermediários dihidroxilado e dideclorado. Entretanto, alguns microrganismos são capazes de mineralizar o herbicida, mas não podem utilizar como única fonte de carbono e energia, necessitando de uma fonte suplementar para o seu crescimento (GAYLARDE et al., 2005).

Neste trabalho, foi possível observar que as linhagens BM01 e BM02 cresceram em MSM utilizando picloram como única fonte de carbono, de acordo com os resultados dos testes de oxidação e tolerância ao picloram. Os resultados das análises cromatográficas sugerem que houve degradação



parcial do picloram pelas linhagens bacterianas, considerando que o picloram saiu do tempo de retenção em torno de 5 minutos, quando comparado com os cromatogramas obtidos ao final do experimento (BM01f e BM02f), e a diminuição na intensidade do pico do herbicida. Dessa forma, pode-se inferir que uma parte do padrão de picloram foi degradado pelas bactérias.

As linhagens BM01 e BM02 têm apresentado produção de biossurfactante utilizando diferentes fontes de carbono, como glicerol, óleo diesel (QUEIROZ; SANTOS et al., 2019) e resíduos de açaí (SANTOS; TORQUATO; SANTOS, 2020) e babaçu (SANTOS; SILVA; SANTOS, 2022). No entanto, neste trabalho não foi observado a produção de emulsificado em nenhum teste com picloram como fonte de carbono, mas no controle houve produção satisfatória.

Alguns fatores podem influenciar a produção de BS, como a natureza do substrato, condições de cultivo (temperatura, pH, agitação), concentrações de íons (P, N, Mg, O₂ e Fe⁻, Cl) no meio de cultura (JIMOH, 2019; ROY, 2018). A hipótese levantada neste trabalho é que o picloram foi degradado parcialmente, limitando o crescimento e a produção de BS pelas linhagens bacterianas testadas, gerando pouca energia e fonte de carbono necessária para o crescimento e realização das atividades vitais das células bacterianas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de herbicidas de maneira inapropriada tem causado impactos negativos ao ambiente, tornando-se necessário desenvolver estratégias inovadoras e sustentáveis para minimizar os impactos ambientais. Neste trabalho, as linhagens bacterianas avaliadas foram capazes de tolerar a altas concentrações de picloram, entretanto, este influenciou no crescimento bacteriano e na produção de biossurfactante, possivelmente devido a degradação parcial do herbicida. Nesse sentido, novos estudos precisam ser realizados para elucidar o processo de oxidação microbiana do picloram associado a produção de biossurfactante.



REFERÊNCIAS

- ANDRIGHETTI, M. S.; NACHTIGALL, G. R.; QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; AYUB, M. A. Z. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, p. 1643-1653, 2014.
- ARAÚJO, A.S.F. Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos. 2002. 83 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.
- BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B.; FRANKENBERGER JUNIOR, W.T. Biorremediation of soil contaminated by diesel oil. *Brazilian Journal of Microbiology*, [S.l.], v. 34, n. 1, p. 65-68, 2003.
- BODOUR, A.A.; MILLER-MAIER, R.M. Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, v.32, p.273-280, 1998.
- CLEMENTS, T.; NDLOVU, T; KHAN, S.; KHAN, W. Biosurfactants Produced by *Serratia* Species: Classification, Biosynthesis, Production and Application. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 103, n. 2, p. 589-602, jan. 2019.
- CORREIA, N. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 30 p, doc 160. 2018.
- CRUZ, D.R.S. Aplicação de catalisadores híbridos magnéticos no processo eletro-Fenton heterogêneo para degradação de compostos orgânicos em amostras reais, 2022.
- GAYLARDE, C.C.; BELLINASSO, M.L.; MANFIO, G.P. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.34, p.36-43, 2005.
- GHAUCH, A. Degradation of benomyl, picloram, and dicamba in a conical apparatus by zero-valent iron powder. *Chemosphere*, v. 43, p. 1109-1117, 2001.
- GAO, Y.; NIU, Z.; YANG, H.; YU, L. Impact of green control techniques on family farms' welfare. *Ecological Economics*, v. 161, p. 91-99, 2019.
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Boletim de venda de agrotóxicos e afins: Total das Vendas de Agrotóxicos e Afins nas Regiões e Estados Brasileiros. Ibama, 2020. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acesso em: 03 abril 2022.
- JIMOH, Abdullahi Adekilekun; LIN, Johnson. Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. *Ecotoxicology and Environmental safety*, v. 184, p. 109607, 2019.
- YIN, K.; WANG, Q.; LV, M.; CHEN, L. Microorganism remediation strategies towards heavy metals, *Chemical Engineering Journal*, p.36, 2018.
- KUMAR, V. et al. Nanomaterial-based immunosensors for ultrasensitive detection of pesticides/herbicides: Current status and perspectives. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 165, p. 112382, 2020.



LEONEL, Lillian Vieira et al. Biorremediação do solo. Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa, v. 26, n. 51, p. 37-52, 2018.

LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Characterisation, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. Colloids Surf B., v. 102, p. 202-209, 2013.

MEDEIROS, J.F.; ACAYABA, R.D.; MONTAGNER, C.C. A química na avaliação do impacto à saúde humana diante da exposição aos pesticidas. Química Nova, v. 44, p. 584-598, 2021.

MEIKLE, RW; Youngson, CR; Hedlund, RT; Göring, CAI; Addington, WW Decomposição de picloram por microrganismos do solo: uma sequência de reação proposta. Ciência da erva daninha, v. 22, p. 263-268, 1974.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. Microbiologia ambiental. 2. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 6. ed. Pennsylvania: NCCLS; 2003.

PINHO, A. P. et al. Atrazine and picloram adsorption in organic horizon forest samples under laboratory conditions. Planta daninha, v. 25, n. 1, p. 125-131, 2007.

PROCÓPIO, S. O. et al. Fitorremediação de solo contaminado com picloram por capim-pé-de-galinha-gigante (*Eleusine coracana*). Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.32, p. 2517-2524, 2008.

QUEIROZ, D. S.; SANTOS, S. C. Seleção de bactérias produtoras de biossurfactante. In: MOSTRA CIENTÍFICA DO SUL E SUDESTE DO PARÁ, 2., 2019, Marabá. Anais II MOCISSPA. Marabá, PA: Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, 2019. Disponível em: <https://ppgecm.unifesspa.edu.br/eventos/2-uncategorised/163-ii-mocisspa.html>. Acesso em: 18 out. 2019.

ROY, Arpita. Review on the biosurfactants: properties, types and its applications. J. Fundam. Renew. Energy Appl, v. 8, p. 1-14, 2017.

SADOWSKY, M.J.; KOSKINEN, C.C.; BISCHOFF, M.; ÁRBITRO, B.L.; BECKER, J. M.; TURCO, E. F. Rapid and Complete Degradation of the Herbicide Picloram by *Lipomyces kononenkoae*. J. Agric. Food Chem. v. 57, p. 4878-4882, 2009.

SANTOS, S. C.; FERNANDEZ, L. G.; ROSSI-ALVA, J. C.; ROQUE, M. R. A. Evaluation of substrates from renewable-resources in biosurfactants production by *Pseudomonas* strains. Afr. J. Biotechnol., v. 9, p. 5704-5711, 2010.

SANTOS, S.C.; TORQUATO, C.A.; SANTOS, D. A. Solução nutritiva alternativa para produção de biossurfactante. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202002115, Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 15/10/2020.

SANTOS, S.C.; SILVA, K. W.; SANTOS, D. A. MEIO DE CULTURA À BASE DE RESÍDUO DE BABAÇU PARA PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE. 2022, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020220079781, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 27/04/2022.



SOUZA, A. J.; ANDRADE, P. A. M. DE; ARAÚJO PEREIRA, A. P. DE; ANDREOTE, F. D.; TORNISIELO, Valdemar Luiz; REGITANO, Jussara Borges. The depleted mineralization of the fungicide chlorothalonil derived from loss in soil microbial diversity. *Scientific Reports*, v. 7, p. 1-8, 2017.

STEFFEN, G.P.K.; STEFFEN, R.B.; ANTONIOLLI, Z.I. Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos. *Tecno-logica*, v. 15, p. 15-21, 2011.

SVARTBERG, K. et al. Controle de ph na técnica de biorremediação eletrocinética. *Animal Behaviour*, v. 69, n. 2, p. 283–291, 2005.