

INFLUÊNCIA DOS AGROTÓXICOS NA DISTRIBUIÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS BACTERIANOS

Catiusca Reali¹; Graziela Gonçalves Scherr²; Lidia Mariana Fiuza³

Palavras-chave: *Oryza sativa*, lâmina d'água, metabolismo bacteriano.

INTRODUÇÃO

A composição das populações de microrganismos presentes no solo é um dos fatores que podem afetar, também, o destino dos agrotóxicos no ambiente. Algumas bactérias, como as do gênero *Pseudomonas*, podem degradar até 60% de resíduos de agrotóxicos. Portanto, além de importantes promotoras da estabilidade do solo e manutenção de nutrientes, as bactérias podem ser aliadas na descontaminação de ambientes e como consequência, na diminuição do lançamento de resíduos em efluentes.

Bactérias promovem o equilíbrio e sustentabilidade do solo em agroecossistemas, metabólica e fisiologicamente (Wakelin et al., 2008), porém, alguns estudos em ambientes aquáticos têm relatado que comunidades bacterianas são afetadas pela contaminação de agrotóxicos, causando inclusive a diminuição na diversidade de espécies (Barreiros et al., 2011; Pesce et al., 2008). Através da modificação na composição de espécies bacterianas, a estabilidade do solo também pode ser afetada.

A combinação de diferentes estratégias é necessária para que a caracterização da população de microrganismos seja bem representada (Müller et al., 2002). Métodos convencionais são menos eficientes quanto à caracterização da diversidade de microrganismos, porém são importantes aliados na formação de bancos de isolados com potencial de aplicação em controle biológico, biotecnologia e formulados que podem ser utilizados diretamente na agricultura (Bascom-Slack et al., 2009; Vaz-Moreira et al., 2011). Assim como técnicas de PCR e sequenciamento trazem resultados interessantes quanto a identificação de espécies.

Devido à importância econômica dessa cultura e, constante aumento na produtividade e áreas plantadas, estudos sobre a manutenção de recursos naturais são indispensáveis para a sustentabilidade da produção. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de resíduos de agrotóxicos sobre a dinâmica de comunidades de grupos funcionais bacterianos na água.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de água foram coletadas em duas lavouras orizícolas, cultivadas sob o sistema pré-germinado, e açudes utilizados como fonte de irrigação situados no município de Viamão, Brasil. Durante o ano agrícola 2012/13 foram realizadas amostragens em três períodos: após o preparo do solo, na fase vegetativa e na fase reprodutiva da planta. Em cada lavoura foi coletada uma amostra composta da lâmina de água das parcelas orizícolas (até 10 cm) e amostras em duas estratificações dos açudes (até 10 cm e de 50-100 cm), acondicionadas em frascos esterilizados e conservados a 4°C até serem realizadas as análises. No momento da coleta foram feitas as medições da temperatura da água e pH utilizando o equipamento Intelligent Meter (INSTRUTHERM PH-1300). As análises de resíduos de agrotóxicos foram realizadas pelo Laboratório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (LARP), da Universidade Federal de Santa Maria.

¹ Mestre em Biologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), 950 - Cristo Rei, São Leopoldo - RS, 93022-000. catiuscar@gmail.com

² Mestranda Graziela Gonçalves Scherr, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

³ Doutora em Agronomia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos.

As amostras foram diluídas em solução salina estéril em 10^{-2} para bactérias actinomicetozas e solubilizadoras de fosfato e, 10^{-3} para bactérias heterotróficas e *Pseudomonas*, que foram inoculadas em meio Agar Amido de Caseína, meio NBRIP, meio Agar Plate Count (HIMEDIA) e meio de King B Base (HIMEDIA) respectivamente, em triplicata. As Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram contabilizadas com auxílio de contador de colônias e posteriormente realizadas as provas bioquímicas de catalase, uréase, glicose, amido, caseína, esculina, frutose, lactose, galactose, manitol e sacarose.

Foram aplicados os testes de Análise de Variância para a comparação da abundância entre os grupos, entre grupos e locais e entre grupos e fases da cultura e comparação das médias feita através do Teste de Tukey. Já para a comparação entre os grupos funcionais e os resíduos de agrotóxicos foi aplicada uma Análise de Correspondência Canônica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os grupos funcionais avaliados neste trabalho foram encontrados tanto nas lavouras quanto nas fontes de irrigação, porém a abundância se deu de forma diferente entre os locais. O maior número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi encontrada nas lavouras, essa diferença foi comprovada estatisticamente através da Análise de Variância ($F=9,859$; $gl=1$; $p<0,005$). Demonstrando que esse ambiente heterogêneo é favorável ao crescimento dos grupos avaliados.

A distribuição dos grupos funcionais também foi comparada em relação às fases da cultura, porém estas não influenciaram os grupos heterotróficas ($F=0,264$; $gl=2$; $p=0,771$), *Pseudomonas* ($F=0,392$; $gl=2$; $p=0,682$), Actinomicetos ($F=1,655$; $gl=2$; $p=0,222$) e bactérias Solubilizadoras de Fosfato ($F=0,344$, $gl=2$; $p=0,714$). A abundância, ou seja, a UFC variou entre os grupos funcionais ($F=12,759$; $gl=3$; $p<0,001$), sendo mais abundantes as bactérias heterotróficas e gênero *Pseudomonas* e, em menor número, as bactérias actinomicetos e solubilizadoras de fosfato. Um pequeno número de bactérias do grupo fluorescentes foi encontrado, mas como estavam em abundância muito baixa não foram incluídas nas análises estatísticas.

Em solos tropicais, a maioria das bactérias são Gram-positivas, em torno de 70% (Venkatachalam et al., 2015). Nas amostras de água, a maior abundância encontrada foi de bactérias do gênero *Pseudomonas*, que são Gram-negativas. Dentre as bactérias heterotróficas, que também foram abundantes, não foi feita a coloração pelo método diferencial de Gram para identificar a frequência de Gram-positivas e negativas, mas Van Bodegom et al. (2001) reporta bactérias do gênero *Pseudomonas* como as bactérias heterotróficas mais abundantes em solo de lavoura de arroz. Fatores como adição de fósforo e nitrogênio através de fertilizantes podem provocar um aumento de bactérias heterotróficas em lavouras de arroz (Barreiros et al., 2011), dentre elas as do gênero *Pseudomonas*.

O perfil bioquímico dos grupos funcionais demonstrou requisição nutricional diferenciada entre os grupos. Bactérias heterotróficas apresentaram frequência mais baixa de resultados positivos para a prova de uréase (38,2%), enquanto os demais grupos estavam todos acima de 70%. Bactérias solubilizadoras de fosfato tiveram frequência de resultados positivos, mais baixa para as provas de catalase (77,4%), glicose (75,5%), amido (43,4%), caseína (52,8%), esculina (60,3%), frutose (64,1%), galactose (52,8%) e lactose (64,1%). Para a produção de gás na prova de glicose, onde todos os grupos ficaram com resultados abaixo de 14% enquanto bactérias que solubilizam fosfato apresentaram cerca de 40% de resultados positivos. O grupo com maior frequência de resultados positivos foi de bactérias actinomicetos. Elas tiveram maior frequência positiva para catalase (98,9%), amido (68,8%), frutose (95,7), lactose (91,4%), manitol (76,3%) e sacarose (91,4%).

A soma dos dois primeiros eixos da CCA foi de 74,1%. Apenas propoxur mostrou ter uma correlação média com o eixo 2 (0.389), influenciando bactérias solubilizadoras de fosfato e *Pseudomonas* spp. (Figura 1). Carbensulfazil teve correlação baixa e negativa com

o eixo 1 (-0.257), assim como temperatura (-0.225). Metsulfuron apresentou correlação baixa e positiva ao eixo 2 (0.170) assim como pH (0.162).

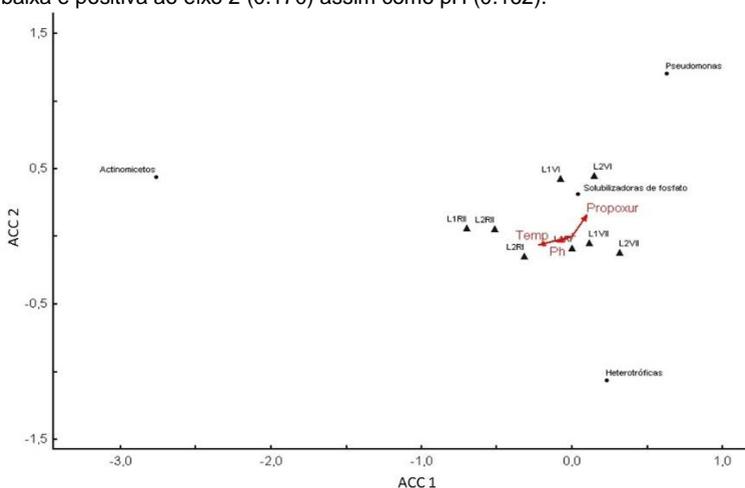


Figura 1. Diagrama de ordenação produzido pela Análise de Correspondência Canônica (ACC). As espécies estão representadas por círculos (+), os locais por triângulos (▲) com abreviação: L1 (lavoura local 1), L2 (lavoura local 2), V (fase fenológica vegetativa), R (fase fenológica reprodutiva). Os resíduos representados pelo símbolo (+) com abreviação Carbenda (carbendazim), Propoxur (propoxur), Metsulfu (metsulfurom metílico), Carbofur (carbofurano), Clomazon (clomazone). Análise realizada através do software PCord 6.

A quantidade aplicada, o tempo de exposição ao produto, assim como o número de repetições também gera uma resposta diferenciada dos microrganismos. Bactérias normalmente tem uma resposta de recuperação rápida à aplicação, até mesmo podem ter uma resposta adaptativa da comunidade quando a frequência da aplicação é alta, tornando-se mais resistentes à toxicidade (Imfeld and Vuilleumier, 2012).

Nesse trabalho, as maiores concentrações de resíduos de agrotóxicos foram encontradas na fase fenológica da planta correspondente à vegetativa. Apenas para o grupo de actinobactérias foi possível perceber que ocorre decréscimo nas atividades de catalase, glucose, esculina, galactose, manitol e sacarose, justamente na fase de maior concentração de químicos. Pois essas atividades aparecem em níveis altos antes da aplicação, baixam no período de maior concentração de químicos e tornam a aumentar na fase reprodutiva. Para os demais grupos esse efeito não fica evidenciado.

Testes mais específicos com actinobactérias podem inferir mais diretamente se o efeito da diminuição na atividade metabólica é decorrente da aplicação de agrotóxicos e, se confirmado, elas poderiam ser utilizadas como bioindicadoras em ambientes agrícolas, já que são mais sensíveis a alterações químicas e biológicas no ambiente, provocadas por agrotóxicos.

CONCLUSÃO

Os resultados gerados pela CCA indicam que os resíduos de agrotóxicos pouco afetaram a abundância dos grupos funcionais avaliados. Somente Propoxur mostrou ter correlação média com bactérias solubilizadoras de fosfato e *Pseudomonas* spp. Porém, a diminuição do

metabolismo de bactérias actinomicetos durante a fase vegetativa. Nesse período, foram encontradas as maiores concentrações de resíduos de agrotóxicos na lâmina d'água das lavouras.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao IRGA, Capes, CNPq, FAPERGS e UNISINOS pelo apoio financeiro à pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARREIROS, L., MANAIA, C. M., NUNES, O. C. Bacterial diversity and bioaugmentation in floodwater of a paddy field in the presence of the herbicide molinate. **Biodegradation**, v. 22, p. 445–461. 2011.
- BASCOM-SLACK, C. A., et al. Multiple, novel biologically active endophytic actinomycetes isolated from upper Amazonian rainforests. **Microbial Ecology**, v. 58, p. 374–83. 2009.
- IMFELD, G., VUILLEUMIER, S. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review. **European Journal of Soil Biology**, v. 49, p. 22–30. 2012.
- MÜLLER, A. K., et al. The diversity and function of soil microbial communities exposed to different disturbances. **Microbial Ecology**, v. 44, p. 49–58. 2002.
- PESCE, S., et al. Longitudinal changes in microbial planktonic communities of a French river in relation to pesticide and nutrient inputs. **Aquatic Toxicology**, v. 86, p. 352–360. 2008.
- VAN BODEGOM, P., et al. Methane Oxidation and the Competition for Oxygen in the Rice Rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 3586–3597. 2001.
- VAZ-MOREIRA, I., et al. Culture-dependent and culture-independent diversity surveys target different bacteria: A case study in a freshwater sample. *Antonie van Leeuwenhoek*, **International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 100, p. 245–257. 2011.
- VENKATACHALAM, S.; GOWDAMAN, V.; PRABAGARAN, S. R. Culturable and Culture-independent Bacterial Diversity and the Prevalence of Cold-Adapted Enzymes from the Himalayan Mountain Ranges of India and Nepal. **Microbial Ecology**, V. 69, p. 472–491. 2015.
- WAKELIN, S. A., et al. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 803–813. 2008.