

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL –
MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GESTÃO E TECNOLOGIA AMBIENTAL

MAINARA NICARETTA DAHMER

**BIODEGRADAÇÃO DO FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA EM ÁGUA
UTILIZANDO AS BACTÉRIAS *Bacillus subtilis* E *Pseudomonas aeruginosa***

Santa Cruz do Sul

2023

Mainara Nicaretta Dahmer

**BIODEGRADAÇÃO DO FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA EM ÁGUA
UTILIZANDO AS BACTÉRIAS *Bacillus subtilis* E *Pseudomonas aeruginosa***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para o título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Lisianne Brittes Benitez

Coorientadora: Profa. Dra. Tiele Medianeira Rizzetti

Santa Cruz do Sul
2023

RESUMO

Os fungicidas são aplicados em várias práticas agrícolas para reduzir a carga microbiana e possibilitar alta produtividade. A exposição prolongada a estes agrotóxicos prejudica o meio ambiente e afeta a saúde de humanos e outras formas de vida, por isso a degradação destes compostos por biorremediação microbiana tem sido foco de inúmeros estudos. Com o objetivo de estudar a biodegradação bacteriana do fungicida piraclostrobina em meio líquido esta dissertação reúne um artigo de revisão com análise bibliométrica e um artigo com os dados experimentais. A análise bibliométrica foi realizada a partir dos termos “biodegradação” e “fungicidas”, com foco na biorremediação utilizando bactérias e consórcios microbianos para os últimos 10 anos. Vinte artigos foram selecionados na base de dados Scopus a partir das palavras-chave e o *software Biblioshiny* foi utilizado para realizar uma análise detalhada das publicações. Verificou-se um aumento nas publicações relacionadas à biorremediação microbiana, com os estudos sobre as estrobilurinas apresentando crescente interesse científico. Dentre os países que apresentaram mais contribuições na área se destacou a Grécia. Na pesquisa experimental da dissertação, avaliou-se a biodegradação do fungicida piraclostrobina (uma estrobilurina) em água. Os experimentos foram realizados a partir de um planejamento fatorial completo em que se utilizaram duas variáveis, as bactérias (*Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*) de forma isolada e o tempo de exposição ao fungicida (5 e 10 dias). Os experimentos com as bactérias em consórcio foram conduzidos durante 5 dias. As amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção de Arranjo de Diodos (HPLC-DAD) e Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS). Os resultados mostraram que ambas as bactérias biodegradaram a piraclostrobina, com a *Pseudomonas aeruginosa* apresentando uma taxa de degradação significativamente maior (57,9% em dez dias). O consórcio entre as bactérias não apresentou melhores resultados quando comparados à *Pseudomonas aeruginosa* empregada isoladamente; logo, não apresentou efeitos sinérgicos capazes de levar a um aumento na biodegradação da piraclostrobina. Concluiu-se que a biodegradação da piraclostrobina por *Pseudomonas aeruginosa* demonstrou ser promissora para a remoção deste fungicida quando disperso em meio líquido. Porém, ainda são necessárias mais pesquisas que foquem na utilização de consórcios entre distintos microrganismos para melhorar os índices de degradação e a eficiência de remoção destes compostos do meio ambiente.

Palavras-chave: Biorremediação; Poluentes orgânicos; Estrobilurinas; Consórcio bacteriano; Bibliometria

ABSTRACT

BIODEGRADATION OF THE FUNGICIDE PYRACLOSTROBIN IN WATER USING BACTERIA *Bacillus subtilis* AND *Pseudomonas aeruginosa*

Fungicides are applied in various agricultural practices to reduce microbial load and enable high productivity. Prolonged exposure to these pesticides harms the environment and affects the health of humans and other forms of life, which is why the degradation of these compounds through microbial bioremediation has been the focus of numerous studies. With the objective of studying the bacterial biodegradation of the fungicide pyraclostrobin in liquid media, this dissertation brings together a review article with bibliometric analysis and an article with experimental data. The bibliometric analysis was carried out using the terms “biodegradation” and “fungicides”, focusing on bioremediation using bacteria and microbial consortia for the last 10 years. Twenty articles were selected from the Scopus database based on keywords and the *Biblioshiny* software was used to carry out a detailed analysis of the publications. There was an increase in publications related to microbial bioremediation, with studies on strobilurins showing increasing scientific interest. Among the countries that made the most contributions in the area, Greece stood out. In the dissertation's experimental research, the biodegradation of the fungicide pyraclostrobin (a strobilurin) in water was evaluated. The experiments were carried out using a complete factorial design in which two variables were used, the bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*) in isolation and the time of exposure to the fungicide (5 and 10 days). The experiments with bacteria in a consortium were conducted for 5 days. The samples were analyzed by High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection (HPLC-DAD) and Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-MS). The results showed that both bacteria biodegraded pyraclostrobin, with *Pseudomonas aeruginosa* showing a significantly higher degradation rate (57.9% in ten days). The consortium between bacteria did not show better results when compared to *Pseudomonas aeruginosa* used alone; therefore, it did not present synergistic effects capable of leading to an increase in the biodegradation of pyraclostrobin. It was concluded that the biodegradation of pyraclostrobin by *Pseudomonas aeruginosa* demonstrated promise for the removal of this fungicide when dispersed in a liquid medium. However, more research is still needed to focus on the use of consortia between different microorganisms to improve degradation rates and the efficiency of removing these compounds from the environment.

Keywords: Bioremediation; Organic pollutants; Strobilurins; Bacterial consortium; Bibliometrics

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS.....	13
2.1.	Objetivo geral	13
2.2.	Objetivos específicos.....	13
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1.	Aplicações de agrotóxicos no Brasil	14
3.2.	Classe de fungicidas: Estrobilurinas.....	15
3.3.	Biorremediação microbiana de agrotóxicos	16
4	METODOLOGIA.....	18
4.1.	Delineamento da pesquisa	18
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6	ARTIGO 1 – VISÃO GERAL DA DEGRADAÇÃO BACTERIANA DE FUNGICIDAS: ESTADO ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS	22
7	ARTIGO 2 – BIODEGRADAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA EM ÁGUA POR <i>Bacillus subtilis</i> E <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
8	CONCLUSÕES FINAIS	59
9	TRABALHOS FUTUROS.....	61
10	ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O MESTRADO.....	62
11	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

Desde 1940 os agrotóxicos fazem parte da vida humana, a partir da primeira utilização de inseticidas organoclorados para o controle de pragas nas lavouras, uma vez que estes compostos são utilizados para proteger as culturas agrícolas e na eliminação de pragas capazes de transmitir doenças (GILL e GARG, 2014).

Os agrotóxicos são capazes de exercer efeitos positivos quando utilizados de forma correta nas culturas agrícolas, mas seu uso inadequado, como doses acima das recomendadas, forma e intervalo de aplicação e períodos entre a aplicação do produto e a data de colheita, podem ocasionar resíduos ou contaminação dos alimentos, a contaminação dos solos, mananciais e rios (LUIZ, 2015).

Diferentes categorias de agrotóxicos são utilizadas com frequência na redução de pragas em sistemas agrícolas (ZHAN *et al.*, 2020). O impacto ambiental é determinado por fatores diversos, como a toxicidade, persistência, mobilidade, tempo de aplicação e formulação (LIN *et al.*, 2020; MISHRA *et al.*, 2020; ZHAN *et al.*, 2020).

Por serem compostos químicos, os agrotóxicos podem passar por inúmeras transformações e são facilmente transferidos do local de aplicação para outros locais vizinhos. Desta forma, alcançam ecossistemas sensíveis e exercem efeitos tóxicos em outros organismos (CARVALHO, 2017). São compostos que podem estar presentes no solo, no ar, na água, na poeira, e em alimentos e produtos consumidos pelas pessoas (CARVALHO, 2017; FOSTER *et al.*, 2017).

Estes compostos são capazes de provocar efeitos negativos na saúde humana, já que normalmente entram no corpo humano através da alimentação, via respiratória ou exposição do produto à pele, acarretando sintomas agudos e/ou crônicos (FOSTER *et al.*, 2017). O contato com os produtos químicos sintéticos está intimamente relacionado com doenças como o câncer e problemas endócrinos (CARVALHO, 2017; FOSTER *et al.*, 2017).

Devido aos agrotóxicos apresentarem inúmeros riscos à saúde humana e ao meio ambiente, associado ao fato de serem amplamente utilizados em lavouras, estudos tornam-se importantes para monitorar e controlar o uso destes produtos (MATIAS *et al.*, 2019; AMARO *et al.*, 2021).

Várias organizações internacionais, como a Agência de Proteção Ambiental (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*), a Organização das Nações Unidas para Alimentação

e Agricultura (FAO, do inglês *Food and Agriculture Organization*) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) instituíram diretrizes legais para a regulamentação dos agrotóxicos (NAIDENKO, 2020). Para atualizar e validar essas diretrizes, a ecotoxicologia dos agrotóxicos precisa passar por novas avaliações ao longo do tempo por causa de sua ampla gama de aplicações ambientais (GUÉNICHE *et al.*, 2020; NAIDENKO, 2020).

Segundo Köhle *et al.* (2002), verificou-se em experimentos realizados em culturas de trigo e cevada que as estrobilurinas também são capazes de alterar o metabolismo e crescimento das plantas, causar efeitos adicionais à fisiologia de cereais e aumentar significativamente o rendimento das culturas.

A alta umidade do ar, devido ao excesso de chuvas e frequência de dias cobertos na região sul do Brasil, provoca um clima que favorece a ocorrência e ampliação da intensidade de doenças fúngicas nas plantações, o que torna a aplicação de fungicidas essencial para o desenvolvimento diante ao aumento da intensidade das doenças e das dificuldades de controle (BERTAGNOLLI *et al.*, 2016).

Apesar de a piraclostrobina apresentar baixa toxicidade em mamíferos e ter uma grande amplitude de aplicações para controle químico de fungos em diversos países, pode ocasionar riscos ambientais, devido ao seu uso constante e frequente (ESTEVE-TURRILLAS *et al.*, 2010; FAO, 2011).

Devido às aplicações de agrotóxicos serem em grande escala, vários métodos físico-químicos e microbianos são utilizados frequentemente, com o propósito de remediação do ambiente contaminado (QIAN *et al.*, 2020). Quando comparados entre si, a biorremediação é mais segura do que os métodos físico-químicos, devido à sua eficácia e comportamento ecológico (QIAN *et al.*, 2020).

Fica evidente uma evolução no estudo da microbiologia ambiental uma vez que as primeiras pesquisas nesta área trabalharam principalmente com culturas axênicas. Vários microrganismos em cultura axênica já foram utilizados comercialmente em larga escala para biorremediação, biofertilizantes e outros fins agrícolas e industriais (QIAN *et al.*, 2020). Diversos estudos desenvolverem técnicas empregando consórcios microbianos mistos, com o objetivo de auxiliar no reconhecimento de seus impactos na degradação de agrotóxicos. Como avanço destes estudos percebeu-se que em aplicações que utilizam a biorremediação comprova-se que é mais efetivo o uso de culturas mistas, quando comparado ao de cultivos microbianos

isolados (KAEBERLEIN *et al.*, 2002; BRUNE e BAYER, 2012; LEE *et al.*, 2018; QIAN *et al.*, 2020).

A degradação microbiana normalmente leva à mineralização completa desses compostos, é econômica e ecologicamente correta. Avalia-se o uso de cepas para degradação de agrotóxicos durante o processo de biorremediação, porém este processo apresenta limitações, por exemplo, taxas de degradação lentas, falta de via de degradação completa em um único organismo e hierarquia de utilização de fontes de carbono devido à presença de fontes de carbono simples, entre outras (NIELSEN, 2001; DVOŘÁK *et al.*, 2017; PHALE *et al.*, 2020). Além disso, fatores ambientais como pH não ideal e limitação de oxigênio também afetam a capacidade de sobrevivência desses organismos (NIELSEN, 2001; DVOŘÁK *et al.*, 2017; PHALE *et al.*, 2020).

Nesse contexto, destaca-se a relevância tecnológica e ambiental de pesquisas que buscam desenvolver tecnologias que utilizam ferramentas biológicas em substituição a métodos químicos e físicos na degradação e remoção de contaminantes orgânicos, como o fungicida piraclostrobina, amplamente utilizado na agricultura. A biorremediação é uma alternativa promissora por utilizar metodologias ambientalmente amigáveis, eficazes e que podem gerar menos custos para as indústrias, sendo este um dos objetivos da linha de pesquisa “Microbiologia aplicada à tecnologia Ambiental” do PPGTA, na qual esse estudo foi realizado.

2 REFERÊNCIAS

- [1] Adee, E. A., L. E. Paul, E. D. Nafziger and G. Bollero (2005). "Yield loss of corn hybrids to incremental defoliation." *Crop Management* **4**(1): 1-9
- [2] Aislabie, J. and G. Lloyd-Jones (1995). "A review of bacterial-degradation of pesticides." *Soil Research* **33**(6): 925-942
- [3] Alexandrino, D. A. M., A. P. Mucha, C. M. R. Almeida and M. F. Carvalho (2020). "Microbial degradation of two highly persistent fluorinated fungicides - epoxiconazole and fludioxonil." *Journal of Hazardous Materials* **394**: 9.10.1016/j.jhazmat.2020.122545
- [4] Amaro, B. B. D. F., D. B. Correia, R. A. de Freitas, P. H. R. Teixeira, C. A. do Nascimento, C. M. Pereira, J. R. L. Silva, M. S. A. da Silva, G. V. Cruz, M. B. Queiroz, J. P. C. de Oliveira, R. A. R. Silva, G. F. Macedo and J. P. Kamdem (2021). "Biosafety in the use of pesticides in the perception of farmers in the District of Cuncas, Barro - Ceará: Physical and Environmental Health." *Research, Society and Development* **10**(1): e15610111644.10.33448/rsd-v10i1.11644
- [5] Anke, T., F. Oberwinkler, W. Steglich and G. Schramm (1977). "The strobilurins-new antifungal antibiotics from the basidiomycete *Strobilurus tenacellus* (Pers. ex Fr.) Sing." *The Journal of antibiotics* **30**(10): 806-810
- [6] Araújo, A. S. F. d. (2002). "Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos."
- [7] Arbo, M. D., S. C. Garcia, M. Sarpa, F. M. R. Da Silva Junior, S. N. Nascimento, A. L. H. Garcia and J. Da Silva (2022). "Brazilian workers occupationally exposed to different toxic agents: A systematic review on DNA damage." *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* **879-880**: 503519.<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2022.503519>
- [8] Aria, M. and C. Cuccurullo (2017). "bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis." *Journal of informetrics* **11**(4): 959-975
- [9] Arora, P. K., A. Srivastava and V. P. Singh (2014). "Bacterial degradation of nitrophenols and their derivatives." *Journal of Hazardous Materials* **266**: 42-59.<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.011>
- [10] Azubuike, C. C., C. B. Chikere and G. C. Okpokwasili (2016). "Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **32**(11): 1-18
- [11] Bacmaga, M., J. Wyszowska and J. Kucharski (2017). "Bioaugmentation of Soil Contaminated with Azoxystrobin." *Water Air and Soil Pollution* **228**(1): 9.10.1007/s11270-016-3200-9
- [12] Balba, H. (2007). "Review of strobilurin fungicide chemicals." *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **42**(4): 441-451.10.1080/03601230701316465

- [13] Baron, G. L., V. A. A. Jansen, M. J. F. Brown and N. E. Raine (2017). "Pesticide reduces bumblebee colony initiation and increases probability of population extinction." *Nature Ecology & Evolution* **1**(9): 1308-1316. [10.1038/s41559-017-0260-1](https://doi.org/10.1038/s41559-017-0260-1)
- [14] Batista, A. C., C. E. d. C. Domingues, M. J. Costa and E. C. M. Silva-Zacarin (2020). "Is a strobilurin fungicide capable of inducing histopathological effects on the midgut and Malpighian tubules of honey bees?" *Journal of Apicultural Research* **59**(5): 834-843
- [15] Bertagnolli, V. V., C. Ranzi, G. V. C., P. B. Neto, P. G., V. G. and C. C. Deuner. (2016). "Aplicação de fungicidas contra mancha amarela em trigo." 202. Retrieved 22 ago, 2021, from <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/aplicacao-de-fungicidas-contra-mancha-amarela-em-trigo>.
- [16] Bhatt, P. (2019). *Smart bioremediation technologies: microbial enzymes*, Academic Press.
- [17] Bhatt, P., K. Bhatt, A. Sharma, W. P. Zhang, S. Mishra and S. H. Chen (2021). "Biotechnological basis of microbial consortia for the removal of pesticides from the environment." *Critical Reviews in Biotechnology* **41**(3): 317-338. [10.1080/07388551.2020.1853032](https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1853032)
- [18] Bilal, M., S. S. Ashraf, D. Barceló and H. M. N. Iqbal (2019). "Biocatalytic degradation/redefining "removal" fate of pharmaceutically active compounds and antibiotics in the aquatic environment." *Science of The Total Environment* **691**: 1190-1211. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.224>
- [19] Billet, L., M. Devers, N. Rouard, F. Martin-Laurent and A. Spor (2019). "Labour sharing promotes coexistence in atrazine degrading bacterial communities." *Scientific Reports* **9**: 8. [10.1038/s41598-019-54978-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-54978-2)
- [20] Birolli, W. G., B. F. da Silva and E. Rodrigues-Filho (2020). "Biodegradation of the fungicide Pyraclostrobin by bacteria from orange cultivation plots." *Science of The Total Environment* **746**: 140968. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140968>
- [21] Bokade, P., V. K. Gaur, V. Tripathi, S. Bobate, N. Manickam and A. Bajaj (2023). "Bacterial remediation of pesticide polluted soils: Exploring the feasibility of site restoration." *Journal of Hazardous Materials* **441**: 129906. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129906>
- [22] Bolognesi, C. and N. Holland (2016). "The use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for monitoring pesticide-exposed populations." *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* **770**: 183-203. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.04.006>
- [23] Brune, K. D. and T. S. Bayer (2012). "Engineering microbial consortia to enhance biomining and bioremediation." *Front Microbiol* **3**: 203. [10.3389/fmicb.2012.00203](https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00203)
- [24] Campos, M., P. S. Karas, C. Perruchon, E. S. Papadopoulou, V. Christou, U. Menkissoglou-Spiroudi, M. C. Diez and D. G. Karpouzas (2017). "Novel insights into the

metabolic pathway of iprodione by soil bacteria." *Environmental Science and Pollution Research* **24**(1): 152-163.[10.1007/s11356-016-7682-1](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7682-1)

[25] Cao, J., C. Wang, Z. Dou, M. Liu and D. Ji (2018). "Hyphospheric impacts of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungus on soil bacterial community to promote oxytetracycline degradation." *Journal of hazardous materials* **341**: 346-354

[26] Carvalho, F. P. (2017). "Pesticides, environment, and food safety." *Food and Energy Security* **6**(2): 48-60.<https://doi.org/10.1002/fes3.108>

[27] Castillo Diaz, J. M., L. Delgado-Moreno, R. Núñez, R. Nogales and E. Romero (2016). "Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts." *Bioresource Technology* **214**: 234-241.[10.1016/j.biortech.2016.04.105](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.105)

[28] Chambers, J. E., H. Greim, R. J. Kendall, H. Segner, R. M. Sharpe and G. Van Der Kraak (2014). "Human and ecological risk assessment of a crop protection chemical: a case study with the azole fungicide epoxiconazole." *Critical Reviews in Toxicology* **44**(2): 176-210.[10.3109/10408444.2013.855163](https://doi.org/10.3109/10408444.2013.855163)

[29] Chen, X., S. He, Z. Liang, Q. X. Li, H. Yan, J. Hu and X. Liu (2018). "Biodegradation of pyraclostrobin by two microbial communities from Hawaiian soils and metabolic mechanism." *Journal of Hazardous Materials* **354**: 225-230.<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.067>

[30] Chuang, S., H. Yang, X. Wang, C. Xue, J. Jiang and Q. Hong (2021). "Potential effects of *Rhodococcus qingshengii* strain djl-6 on the bioremediation of carbendazim-contaminated soil and the assembly of its microbiome." *Journal of Hazardous Materials* **414**: 125496.<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125496>

[31] Collins, C. H., G. L. Braga and P. S. Bonato (2006). "Fundamentos de Cromatografia, editora Unicamp." Campinas, São Paulo, 290p

[32] Copley, S. D. (2009). "Evolution of efficient pathways for degradation of anthropogenic chemicals." *Nature chemical biology* **5**(8): 559-566

[33] Cunha, J. P. A. R. d., L. L. d. Silva, W. Boller and J. F. Rodrigues (2010). "Aplicação aérea e terrestre de fungicida para o controle de doenças do milho." *Revista Ciência Agronômica* **41**: 366-372

[34] Cycoń, M., A. Mroziak and Z. Piotrowska-Seget (2017). "Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review." *Chemosphere* **172**: 52-71.<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.129>

[35] Deng, S., Y. Chen, D. Wang, T. Shi, X. Wu, X. Ma, X. Li, R. Hua, X. Tang and Q. X. Li (2015). "Rapid biodegradation of organophosphorus pesticides by *Stenotrophomonas* sp. G1." *Journal of hazardous materials* **297**: 17-24

- [36] Di Stefano, V., G. Avellone, D. Bongiorno, V. Cunsolo, V. Muccilli, S. Sforza, A. Dossena, L. Drahos and K. Vékey (2012). "Applications of liquid chromatography–mass spectrometry for food analysis." *Journal of Chromatography A* **1259**: 74-85
- [37] dos Santos, J. C., I. H. Batista, H. S. Barroso, J. M. S. Lima, P. Q. Costa Neto, A. Ghelfi and J. O. Pereira (2017). "Biodegradation of the fungicide carbendazim by bacteria from *Coriandrum sativum* L. rhizosphere." *Acta Scientiarum - Biological Sciences* **39**(1): 71-77.10.4025/actascibiols.v39i1.34067
- [38] Dvořák, P., P. I. Nikel, J. Damborský and V. de Lorenzo (2017). "Bioremediation 3.0: Engineering pollutant-removing bacteria in the times of systemic biology." *Biotechnology Advances* **35**(7): 845-866.<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.08.001>
- [39] Esteve-Turrillas, F. A., J. Parra, A. Abad-Fuentes, C. Agulló, A. Abad-Somovilla and J. V. Mercader (2010). "Hapten synthesis, monoclonal antibody generation, and development of competitive immunoassays for the analysis of picoxystrobin in beer." *Analytica chimica acta* **682**(1-2): 93-103
- [40] Fao (2011). "Pyraclostrobin. In: Pesticide residues in food–2011. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues. FAO Plant Production and Protection Paper 211, 223-237."
- [41] Feng, Y., W. Zhang, S. Pang, Z. Lin, Y. Zhang, Y. Huang, P. Bhatt and S. Chen (2020) "Kinetics and New Mechanism of Azoxystrobin Biodegradation by an *Ochrobactrum anthropi* Strain SH14." *Microorganisms* **8** DOI: 10.3390/microorganisms8050625.
- [42] Foster, W. G., J. A. Evans, J. Little, L. Arbour, A. Moore, R. Sauve, J. A. León and W. Luo (2017). "Human exposure to environmental contaminants and congenital anomalies: a critical review." *Critical Reviews in Toxicology* **47**(1): 59-84.10.1080/10408444.2016.1211090 , note = PMID: 27685638
- [43] Gavrilescu, M. (2005). "Fate of pesticides in the environment and its bioremediation." *Engineering in life sciences* **5**(6): 497-526
- [44] Ghosh, P. K. and L. Philip (2006). "Environmental significance of atrazine in aqueous systems and its removal by biological processes: an overview." *Global NEST Journal* **8**(2): 159-178
- [45] Gill, H. K. and H. Garg (2014). *Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies*. Pesticides. L. L. a. S. S. Marcelo. Rijeka, IntechOpen.
- [46] Giuliani, M. M., A. Gagliardi, E. Nardella, F. Carucci, M. L. Amodio and G. Gatta (2019). "The effect of strobilurin on ethylene production in flowers, yield and quality parameters of processing tomato grown under a moderate water stress condition in Mediterranean area." *Scientia Horticulturae* **249**: 155-161.<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.050>

- [47] Gonçalves, C. R., & da Silva Delabona, P. (2022). Strategies for bioremediation of pesticides: challenges and perspectives of the Brazilian scenario for global application—a review. *Environmental Advances*, **8**, 100220.
- [48] Granja, A. (2007). "O VALOR DAS ESTROBILURINAS." 708. Retrieved 22 ago, 2021, from <https://edcentaurus.com.br/agranja/edicao/708/materia/1138>.
- [49] Guéniche, N., A. Bruyere, M. Le Vée and O. Fardel (2020). "Implication of human drug transporters to toxicokinetics and toxicity of pesticides." *Pest Management Science* **76**(1): 18-25.<https://doi.org/10.1002/ps.5577>
- [50] Hester, S., T. Moore, W. T. Padgett, L. Murphy, C. E. Wood and S. Nesnow (2012). "The Hepatocarcinogenic Conazoles: Cyproconazole, Epoxiconazole, and Propiconazole Induce a Common Set of Toxicological and Transcriptional Responses." *Toxicological Sciences* **127**(1): 54-65.[10.1093/toxsci/kfs086](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs086)
- [51] Hiemstra, M. and A. De Kok (2007). "Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography–tandem mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* **1154**(1-2): 3-25
- [52] Huang, Y.-H., X.-J. Huang, X.-H. Chen, Q.-Y. Cai, S. Chen, C.-H. Mo, H. Lü and M.-H. Wong (2018). "Biodegradation of di-butyl phthalate (DBP) by a novel endophytic bacterium *Bacillus subtilis* and its bioaugmentation for removing DBP from vegetation slurry." *Journal of Environmental Management* **224**: 1-9.<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.023>
- [53] Janbandhu, A. and M. H. Fulekar (2011). "Biodegradation of phenanthrene using adapted microbial consortium isolated from petrochemical contaminated environment." *Journal of hazardous materials* **187**(1-3): 333-340
- [54] Kaeberlein, T., K. Lewis and S. S. Epstein (2002). "Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment." *Science* **296**(5570): 1127-1129.[10.1126/science.1070633](https://doi.org/10.1126/science.1070633)
- [55] Karas, P. A., C. Perruchon, E. Karanasios, E. S. Papadopoulou, E. Manthou, S. Sitra, C. Ehaliotis and D. G. Karpouzas (2016). "Integrated biodepuration of pesticide-contaminated wastewaters from the fruit-packaging industry using biobeds: Bioaugmentation, risk assessment and optimized management." *Journal of Hazardous Materials* **320**: 635-644.[10.1016/j.jhazmat.2016.07.071](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.07.071)
- [56] Kasemodel, M. C. (2012). "Seleção de bactérias para biodegradação dos pesticidas organoclorados DDD, PCP e dieldrin."
- [57] Kmellár, B., L. Pareja, C. Ferrer, P. Fodor and A. R. Fernández-Alba (2011). "Study of the effects of operational parameters on multiresidue pesticide analysis by LC–MS/MS." *Talanta* **84**(2): 262-273

- [58] Köhle, H., K. Grossmann, T. Jabs, M. Gerhard, W. Kaiser, J. Glaab, U. Conrath, K. Seehaus and S. Herms (2002). "Physiological effects of the strobilurin fungicide F 500 on plants."
- [59] Kumar Yadav, K., N. Gupta, A. Kumar, L. M. Reece, N. Singh, S. Rezaia and S. Ahmad Khan (2018). "Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects." *Ecological Engineering* **120**: 274-298.<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.05.039>
- [60] Kwak, Y., I. K. Rhee and J. H. Shin (2013). "Application of Biofilm-Forming Bacteria on the Enhancement of Organophosphorus Fungicide Degradation." *Bioremediation Journal* **17**(3): 173-181.[10.1080/10889868.2013.807773](https://doi.org/10.1080/10889868.2013.807773)
- [61] Lanças, F. M. (2009). "A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”." *Scientia Chromatographica* **1**(2): 35-61
- [62] Lee, Y., S. E. Jeong, M. Hur, S. Ko and C. O. Jeon (2018). "Construction and Evaluation of a Korean Native Microbial Consortium for the Bioremediation of Diesel Fuel-Contaminated Soil in Korea." *Front Microbiol* **9**: 2594.[10.3389/fmicb.2018.02594](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02594)
- [63] Lin, Z., W. Zhang, S. Pang, Y. Huang, S. Mishra, P. Bhatt and S. Chen (2020). "Current Approaches to and Future Perspectives on Methomyl Degradation in Contaminated Soil/Water Environments." *Molecules* **25**(3).[10.3390/molecules25030738](https://doi.org/10.3390/molecules25030738)
- [64] Lindley, M. (1976). "Pesticides and the environment." *Nature* **263**(5577): 464-464.[10.1038/263464a0](https://doi.org/10.1038/263464a0)
- [65] Liu, N., H. Li, F. Ding, Z. Xiu, P. Liu and Y. Yu (2013). "Analysis of biodegradation by-products of nitrobenzene and aniline mixture by a cold-tolerant microbial consortium." *Journal of Hazardous Materials* **260**: 323-329.<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.05.033>
- [66] Liu, Y.-H., Y.-C. Chung and Y. Xiong (2001). "Purification and characterization of a dimethoate-degrading enzyme of *Aspergillus niger* ZHY256, isolated from sewage." *Applied and Environmental Microbiology* **67**(8): 3746-3749
- [67] Lopes, A. R., A. S. Danko, C. M. Manaia and O. C. Nunes (2013). "Molinate biodegradation in soils: natural attenuation versus bioaugmentation." *Applied Microbiology and Biotechnology* **97**(6): 2691-2700.[10.1007/s00253-012-4096-y](https://doi.org/10.1007/s00253-012-4096-y)
- [68] López-Loveira, E., F. Ariganello, M. S. Medina, D. Centrón, R. Candal and G. Curutchet (2017). "Degradation alternatives for a commercial fungicide in water: biological, photo-Fenton, and coupled biological photo-Fenton processes." *Environmental Science and Pollution Research* **24**(33): 25634-25644.[10.1007/s11356-016-7602-4](https://doi.org/10.1007/s11356-016-7602-4)
- [69] Luiz, A. J. B. (2015). "Agrotóxicos são do mal?" Retrieved 7 ago 2021, 2021, from <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/6248227/artigo---agrotoxicos-sao-do-mal>.

- [70] Ma, Laura, O.-H., S.-S. Enrique, D.-G. Edgar and C.-G. María Luisa (2013). Pesticide Biodegradation: Mechanisms, Genetics and Strategies to Enhance the Process. Biodegradation. C. Rolando and R. Francisca. Rijeka, IntechOpen: Ch. 10.
- [71] Mahoney, K. J., R. J. Vyn and C. L. Gillard (2014). "The effect of pyraclostrobin on soybean plant health, yield, and profitability in Ontario." Canadian Journal of Plant Science **95**(2): 285-292.10.4141/cjps-2014-125
- [72] Maqbool, Z., S. Hussain, M. Imran, F. Mahmood, T. Shahzad, Z. Ahmed, F. Azeem and S. Muzammil (2016). "Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: a critical review." Environmental Science and Pollution Research **23**(17): 16904-16925.10.1007/s11356-016-7003-8
- [73] Matias, T. P., J. K. Braga and G. Brucha (2019). "Anaerobic biodegradation of atrazine under different redox conditions." International Journal of Advanced Engineering Research and Science **6**(10): 227-236.10.22161/ijaers.610.35
- [74] Mishra, S., W. Zhang, Z. Lin, S. Pang, Y. Huang, P. Bhatt and S. Chen (2020). "Carbofuran toxicity and its microbial degradation in contaminated environments." Chemosphere **259**: 127419.10.1016/j.chemosphere.2020.127419
- [75] Mnif, I., S. Mnif, R. Sahnoun, S. Maktouf, Y. Ayedi, S. Ellouze-Chaabouni and D. Ghribi (2015). "Biodegradation of diesel oil by a novel microbial consortium: comparison between co-inoculation with biosurfactant-producing strain and exogenously added biosurfactants." Environmental Science and Pollution Research **22**(19): 14852-14861
- [76] Naidenko, O. V. (2020). "Application of the Food Quality Protection Act children's health safety factor in the U.S. EPA pesticide risk assessments." Environmental Health **19**(1): 16.10.1186/s12940-020-0571-6
- [77] Naqqash, M. N., A. Gökçe, A. Bakhsh and M. Salim (2016). "Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests." Parasitology Research **115**(4): 1363-1373.10.1007/s00436-015-4898-9
- [78] Nascimento, F. d. A., D. d. M. e. Silva, T. M. A. Pedroso, J. S. A. Ramos and M. R. Parise (2022). "Farmers exposed to pesticides have almost five times more DNA damage: a meta-analysis study." Environmental Science and Pollution Research **29**(1): 805-816
- [79] Nason, M. A., J. Farrar and D. Bartlett (2007). "Strobilurin fungicides induce changes in photosynthetic gas exchange that do not improve water use efficiency of plants grown under conditions of water stress." Pest Management Science **63**(12): 1191-1200.https://doi.org/10.1002/ps.1443
- [80] Nielsen, J. (2001). "Metabolic engineering." Applied Microbiology and Biotechnology **55**(3): 263-283.10.1007/s002530000511

- [81] Nunes, O. C., A. R. Lopes and C. M. Manaia (2013). "Microbial degradation of the herbicide molinate by defined cultures and in the environment." *Applied microbiology and biotechnology* **97**(24): 10275-10291
- [82] Oshita, D. and I. Jardim (2012). "Morango: uma preocupação alimentar, ambiental e sanitária, monitorado por cromatografia líquida moderna." *Scientia Chromatographica* **4**(1): 52-76
- [83] Oshita, D. and I. C. S. F. Jardim (2015). "Comparação de métodos por cromatografia líquida na determinação de multirresíduos de agrotóxicos em morangos." *Química Nova* **38**: 1273-1281
- [84] Pankaj, G. N., S. Gangola, P. Khati, G. Kumar, A. Srivastava and A. Sharma (2016). "Differential expression and characterization of cypermethrin-degrading potential proteins in *Bacillus thuringiensis* strain, SG4." *3 Biotech* **6**(2)
- [85] Papadopoulou, E. S., S. Genitsaris, M. Omirou, C. Perruchon, A. Stamatopoulou, I. Ioannides and D. G. Karpouzas (2018). "Bioaugmentation of thiabendazole-contaminated soils from a wastewater disposal site: Factors driving the efficacy of this strategy and the diversity of the indigenous soil bacterial community." *Environmental Pollution* **233**: 16-25.10.1016/j.envpol.2017.10.021
- [86] Perruchon, C., A. Chatzinotas, M. Omirou, S. Vasileiadis, U. Menkissoglou-Spiroudi and D. G. Karpouzas (2017). "Isolation of a bacterial consortium able to degrade the fungicide thiabendazole: the key role of a *Sphingomonas* phylotype." *Applied Microbiology and Biotechnology* **101**(9): 3881-3893.10.1007/s00253-017-8128-5
- [87] Perruchon, C., A. Pantoleon, D. Veroutis, S. Gallego-Blanco, F. Martin-Laurent, K. Liadaki and D. G. Karpouzas (2017). "Characterization of the biodegradation, bioremediation and detoxification capacity of a bacterial consortium able to degrade the fungicide thiabendazole." *Biodegradation* **28**(5-6): 383-394.10.1007/s10532-017-9803-z
- [88] Phale, P. S., H. Malhotra and B. A. Shah (2020). Chapter One - Degradation strategies and associated regulatory mechanisms/features for aromatic compound metabolism in bacteria. *Advances in Applied Microbiology*. G. M. Gadd and S. Sariaslani, Academic Press. **112**: 1-65.
- [89] PRISMA. (2023). "PRISMA - TRANSPARENT REPORTING of SYSTEMATIC REVIEWS and META-ANALYSES." Retrieved 01/13, 2023, from <https://www.prisma-statement.org/>.
- [90] Qian, X., L. Chen, Y. Sui, C. Chen, W. Zhang, J. Zhou, W. Dong, M. Jiang, F. Xin and K. Ochsenreither (2020). "Biotechnological potential and applications of microbial consortia." *Biotechnol Adv* **40**: 107500.10.1016/j.biotechadv.2019.107500
- [91] Roy, D. C., Biswas, S. K., Sheam, M. M., Hasan, M. R., Saha, A. K., Roy, A. K., Tang, S. S. (2020). Bioremediation of malachite green dye by two bacterial strains isolated from textile effluents. *Current Research in Microbial Sciences*, **1**, 37-43: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.06.001>

- [92] Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., & Govindwar, S. P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. *Journal of the Taiwan institute of Chemical Engineers*, **42**(1), 138-157: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.06.006>
- [93] Sarker, A., R. Nandi, J.-E. Kim and T. Islam (2021). "Remediation of chemical pesticides from contaminated sites through potential microorganisms and their functional enzymes: Prospects and challenges." *Environmental Technology & Innovation* **23**: 101777.<https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101777>
- [94] Schramm, G., W. Steglich, T. Anke and F. Oberwinkler (1978). "Antibiotika aus Basidiomyceten, III. Strobilurin A und B, antifungische Stoffwechselprodukte aus *Strobilurus tenacellus*." *Chemische Berichte* **111**(8): 2779-2784
- [95] Sene, L., A. Converti, G. A. R. Secchi and R. d. C. G. Simão (2010). "New aspects on atrazine biodegradation." *Brazilian Archives of Biology and Technology* **53**: 487-496
- [96] Shao, Y., Z. Chen, H. Hollert, S. Zhou, B. Deutschmann and T. Seiler (2019). "Toxicity of 10 organic micropollutants and their mixture: Implications for aquatic risk assessment." *Science of the total environment* **666**: 1273-1282
- [97] Sounak, B., S. R. Abhijit and M. Kaustubha (2017). "Biodegradation of phenol by a native mixed bacterial culture isolated from crude oil contaminated site." *International Biodeterioration & Biodegradation* **121**: 107-113
- [98] Sun, S., V. Sidhu, Y. Rong and Y. Zheng (2018). "Pesticide Pollution in Agricultural Soils and Sustainable Remediation Methods: a Review." *Current Pollution Reports* **4**(3): 240-250.[10.1007/s40726-018-0092-x](https://doi.org/10.1007/s40726-018-0092-x)
- [99] Sun, X. W., L. Chen, C. Liu, Y. Xu, W. Ma and H. Ni (2020). "Biodegradation of CP/TCP by a constructed microbial consortium after comparative bacterial community analysis of long-term CP domesticated activated sludge." *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes* **55**(10): 898-908.[10.1080/03601234.2020.1794453](https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1794453)
- [100] Tadei, R., C. E. C. Domingues, J. B. Malaquias, E. V. Camilo, O. Malaspina and E. C. M. Silva-Zacarin (2019). "Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*." *Scientific reports* **9**(1): 1-11
- [101] Tarla, D. N., L. E. Erickson, G. M. Hettiarachchi, S. I. Amadi, M. Galkaduwa, L. C. Davis, A. Nurzhanova and V. Pidlisnyuk (2020) "Phytoremediation and Bioremediation of Pesticide-Contaminated Soil." *Applied Sciences* **10** DOI: [10.3390/app10041217](https://doi.org/10.3390/app10041217).
- [102] Tian, J., Q. Dong, C. Yu, R. Zhao, J. Wang and L. Chen (2016). "Biodegradation of the organophosphate trichlorfon and its major degradation products by a novel *Aspergillus sydowii* PA F-2." *Journal of agricultural and food chemistry* **64**(21): 4280-4287

- [103] Tian, J., C. L. Yu, Y. W. Xue, R. X. Zhao, J. Wang and L. Z. Chen (2016). "Performance of trichlorfon degradation by a novel *Bacillus tequilensis* strain PA F-3 and its proposed biodegradation pathway." *Biodegradation* **27**(4-6): 265-276.10.1007/s10532-016-9771-8
- [104] Tortella, G. R., R. A. Mella-Herrera, D. Z. Sousa, O. Rubilar, G. Briceño, L. Parra and M. C. Diez (2013). "Carbendazim dissipation in the biomixture of on-farm biopurification systems and its effect on microbial communities." *Chemosphere* **93**(6): 1084-1093.10.1016/j.chemosphere.2013.05.084
- [105] UTH. (2023). "University of Thessaly." Retrieved 01/14, 2023, from <https://www.uth.gr/en>.
- [106] Vasileiadis, S., C. Perruchon, B. Scheer, L. Adrian, N. Steinbach, M. Trevisan, P. Plaza-Bolaños, A. Agüera, A. Chatzinotas and D. G. Karpouzas (2022). "Nutritional interdependencies and a carbazole-dioxygenase are key elements of a bacterial consortium relying on a *Sphingomonas* for the degradation of the fungicide thiabendazole." *Environmental Microbiology* **24**(11): 5105-5122.10.1111/1462-2920.16116
- [107] Verger, P. J. P. and A. R. Boobis (2013). "Reevaluate pesticides for food security and safety." *Science* **341**(6147): 717-718
- [108] Villegas, L. B., M. A. Martínez, A. Rodríguez and M. J. Amoroso (2014). Microbial consortia, a viable alternative for cleanup of contaminated soils. *Bioremediation in Latin America*, Springer: 135-148.
- [109] Wang, W., Z. Zhao, H. Yan, H. Zhang, Q. X. Li and X. Liu (2022). "Carboxylesterases from bacterial enrichment culture degrade strobilurin fungicides." *Science of the Total Environment* **814**.10.1016/j.scitotenv.2021.152751
- [110] Xu, X.-H., X.-M. Liu, L. Zhang, Y. Mu, X.-Y. Zhu, J.-Y. Fang, S.-P. Li and J.-D. Jiang (2018). "Bioaugmentation of chlorothalonil-contaminated soil with hydrolytically or reductively dehalogenating strain and its effect on soil microbial community." *Journal of Hazardous Materials* **351**: 240-249.<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.03.002>
- [111] Yang, Y.-G., Y. Yang and S.-Z. Li (2014). "PHOTOMETRIC PROPERTIES FOR SELECTED ALGOL-TYPE BINARIES. VIII. THE TRIPLE SYSTEMS DI PEG AND AF GEM REVISITED." *The Astronomical Journal* **147**(6): 145.10.1088/0004-6256/147/6/145
- [112] Zaluski, R., L. A. Justulin and R. de Oliveira Orsi (2017). "Field-relevant doses of the systemic insecticide fipronil and fungicide pyraclostrobin impair mandibular and hypopharyngeal glands in nurse honeybees (*Apis mellifera*)." *Scientific reports* **7**(1): 1-10
- [113] Zamora, T., O. J. Pozo, F. J. López and F. Hernández (2004). "Determination of tridemorph and other fungicide residues in fruit samples by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* **1045**(1-2): 137-143

- [114] Zeng, S., X. Qin and L. Xia (2017). "Degradation of the herbicide isoproturon by laccase-mediator systems." *Biochemical Engineering Journal* **119**: 92-100.<https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.12.016>
- [115] Zhan, H., Y. Huang, Z. Lin, P. Bhatt and S. Chen (2020). "New insights into the microbial degradation and catalytic mechanism of synthetic pyrethroids." *Environ Res* **182**: 109138.[10.1016/j.envres.2020.109138](https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109138)
- [116] Zhang, C., X. Wu, Y. Wu, J. Li, H. An and T. Zhang (2021). "Enhancement of dicarboximide fungicide degradation by two bacterial cocultures of *Providencia stuartii* JD and *Brevundimonas naejangsanensis* J3." *Journal of Hazardous Materials* **403**: 123888.<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123888>
- [117] Zubrod, J. P., M. Bundschuh, G. Arts, C. A. Brühl, G. Imfeld, A. Knäbel, S. Payraudeau, J. J. Rasmussen, J. Rohr, A. Scharmüller, K. Smalling, S. Stehle, R. Schulz and R. B. Schäfer (2019). "Fungicides: An Overlooked Pesticide Class?" *Environmental Science & Technology* **53**(7): 3347-3365.[10.1021/acs.est.8b04392](https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04392)