



## CAPÍTULO 8

# Microbiologia do Solo

Maria Laura Turino Mattos

### 1. INTRODUÇÃO

A microbiologia do solo é o estudo de organismos que vivem no solo, sendo o principal foco suas atividades metabólicas e tarefas no fluxo de energia e ciclagem de nutrientes associadas a produtividades primárias. Adicionalmente, a disciplina aborda impactos ambientais positivos e negativos dos organismos do solo e os processos mediados pelos mesmos. Com o tempo, o escopo da microbiologia do solo foi gradualmente expandido de preocupações primárias com nitrogênio e matéria orgânica para áreas como enzimas do solo, microflora da rizosfera, microrganismos participando na formação estrutura do solo, degradação de agrotóxicos e outros produtos recalcitrantes, ecologia microbiana, transformação de metais e impactos microbianos sobre o meio ambiente. Além disso, a diversidade microbiana do solo, explorada por meio de técnicas tradicionais e avançadas, tem sido o foco para a busca de soluções tecnológicas a problemas no âmbito urbano e rural.

Após o isolamento por Beijerinck em 1888 de bactérias fixadoras de nitrogênio conhecidas como *Rhizobium* e o estabelecimento dos princípios de nitrificação e do modo de vida autotrófico pelo Winogradsky em 1890, caracterizando o início da bioquímica do solo, um número de novos fatores que influenciam a bioquímica e a microbiologia do solo são elucidados no segundo século. Entre esses, destacamos a influência da engenharia genética, o conhecimento que processos biológicos são afetados pelos principais problemas ambientais e a necessidade de desenvolvimento de uma agricultura e sistemas de manejo florestais altamente eficientes. Para tal, há necessidade de envolver a bioquímica e a microbiologia do solo com a biotecnologia, visando realizar a aplicação tecnológica da capacidade dos microrganismos (PAUL; CLARK, 1988).

Neste capítulo, inseriu-se uma reflexão sucinta da microbiologia do solo, abordando-se no texto microrganismos presentes e o seu envolvimento com reações químicas. Estudos de caso foram introduzidos com a cultura do arroz irrigado, visando à compreensão do papel dos microrganismos do solo no comportamento ambiental dos agrotóxicos. Foi focado o entendimento sobre as interações entre os microrganismos e os poluentes no ambiente; a biodegradação de agrotóxicos, bem como os efeitos que os parâmetros ambientais e agrotóxicos e sua estrutura têm sobre as reações de biodegradação.

Por fim, espera-se que este texto possa sensibilizar o leitor sobre a importância dos microrganismos do solo para vários processos fundamentais da agricultura que envolve a multidisciplinaridade e a transdisciplinaridade.

## 2. MICRORGANISMOS PRESENTES NO SOLO

Microrganismos do solo, em conjunto com a biota total e, especialmente, com a vegetação superior, constituem um dos cinco fatores que interagem na formação do solo; os outros quatro são clima, topografia, material parental e tempo. Os processos físicos e químicos de desagregação das rochas para finas partículas com grandes áreas de superfície e, acompanhado da perda de nutrientes das plantas, iniciam o processo de formação do solo. Os dois principais nutrientes que são deficientes nos estágios iniciais desse processo são carbono e nitrogênio. Por isso, os colonizadores iniciais do material parental do solo são usualmente organismos capazes de fotossintetizar e fixar nitrogênio. Esses são predominantemente as cianobactérias, também conhecidas como algas azuis esverdeadas. Após o estabelecimento da vegetação superior, processos contínuos do solo produzem a mistura dinâmica de vida e morte das células, matéria orgânica do solo, e partículas minerais em pequenos tamanhos suficientemente para permitir íntimas interações coloidais características do solo (PAUL; CLARK, 1988).

Em termos de diversidade genética, o solo é o local de inúmeras e variadas populações de todos os tipos de microrganismos, sendo o reservatório final da maioria deles (CARDOSO, 1992). Além disso, contém bilhões de organismos, os quais têm funções e nichos ecológicos específicos, e cada um contribui para várias atividades bióticas no ambiente. Os maiores grupos de organismos do solo incluem vírus, bactérias, fungos, algas e macro fauna como artrópodes e protozoários. Esses organismos têm específicos nichos ecológicos e funções, e cada um contribui para várias atividades do ambiente. As bactérias e fungos são importantes nas transformações bioquímicas, principalmente de agrotóxicos. Populações destes organismos contêm grupos diversos que podem mediar um número infinito de transformações bioquímicas. A importância da microflora do solo é demonstrada pelos seus números e biomassa (Tabela 1) (PEPPER; JOSEPHSON, 1996 citados por PEPPER et al., 1996).

Tabela 1.  
Estimativa da abundância de microrganismos do solo no ambiente.

Microrganismo	Número / g solo <sup>-1</sup>	Biomassa dentro da Zona Raízes / kg ha <sup>-1</sup>
Bactérias	10 <sup>8</sup>	500
Actinomicetos	10 <sup>7</sup>	500
Fungos	10 <sup>6</sup>	1500

Fonte: Pepper e Josephson (1996).

Em se tratando da diversidade de microrganismos no solo, cerca de 160.000 espécies são conhecidas e descritas na literatura. A cada ano, uma média de 1.700 e 120 novas espécies de fungos e bactérias, respectivamente, são descritas na literatura. Estimativas, consideradas por alguns como conservadoras apontam para um total em torno de 1,8 milhões de espécies (HAWKSWORTH, 1992 citado por COUTINHO et al., 2001). Contudo, talvez menos de 0,1 a 10% das espécies microbianas, dependendo do hábitat estudado, tenham sido descobertas e nomeadas até o presente (TRÜPER, 1992 citado por COUTINHO et al., 2001).

A população microbiana do solo existe em equilíbrio dinâmico formado pelas interações dos fatores bióticos e abióticos que podem ser alterados pelas modificações do meio ambiente. As bactérias são os organismos mais abundantes e os mais versáteis degradadores de agrotóxicos, com uma população que varia de 10<sup>6</sup> a 10<sup>9</sup>

organismos g<sup>-1</sup> solo. Os fungos ocorrem em menor número, 104 a 106 g<sup>-1</sup> solo. O número total de actinomicetos no solo é cerca de 107 g<sup>-1</sup> solo (HEAD et al., 1990).

A dominância e participação de bactérias em processos do solo baseadas em literaturas (CLARK; PAUL, 1988; PEPPER et al., 1996) podem ser tendenciosas pela facilidade de isolamento de espécies ou facilidade de seu cultivo *in vitro*. Esses autores citam que, no solo, há dominância dos gêneros de bactérias *Arhrobacter*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* e *Bacillus*; de fungos *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria* e *Rhizopus* e, de actinomicetos (tecnicamente classificados como bactérias) *Streptomyces*.

Em relação às ferramentas para classificação de microrganismos, existem avanços no desenvolvimento de novas técnicas. Azevedo (1998) destaca técnicas, não só como auxiliares na taxonomia microbiana como também na detecção de novos microrganismos como: eletroforese para isozimas, hibridizações DNA-DNA, técnicas de análise direta do DNA conhecidas por siglas como RFLP, PCR, RAPD, além do uso de eletroforese em campo pulsado para separar e determinar tamanho e número de cromossomos de microrganismos.

Ainda com relação às técnicas, Fungaro e Vieira (1998) ressaltam o uso da técnica de PCR (Reação de Polimerase em Cadeia) na detecção e identificação de microrganismos em ambientes naturais. Os autores apresentam metodologias que permitem detectar microrganismos em amostras obtidas de ambientes naturais, sem a necessidade de cultivá-los em laboratório, incluindo: microrganismos engenheirados liberados no ambiente, microrganismos selvagens no ambiente, microrganismos viáveis, mas não-cultiváveis.

No entanto, cabe salientar que, atualmente, menos de 1% da diversidade das espécies de microrganismos do solo são consideradas cultiváveis por técnicas tradicionais, sendo um problema que pode ser contornado por abordagens metagenômicas. Considerando que o nível da diversidade do solo é maior do que estimativas baseadas em métodos de extração de DNA, esforços são necessários para acessar um metagenoma total para estudos imparciais de ecologia microbiana (DELMONT et al., 2011). Porém, essas abordagens geram um número exorbitante de informações, sendo necessários avanços em bioinformática diante da adaptação à enorme quantidade de dados de seqüenciamento gerados (PESSOA FILHO, 2010).

### 3. MICRORGANISMOS DO SOLO ENVOLVIDOS EM PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO

Os microrganismos são capazes de degradar uma grande variedade de compostos, desde simples polissacarídeos, aminoácidos, proteínas, lipídios, aos materiais mais complexos, como resíduos de plantas, ceras e borrachas (látex). Também são capazes de degradar compostos químicos sintetizados pelo homem (TORSTENSSON, 1980). A introdução no solo de um composto contendo C, N ou P pode servir de nutriente e ser assim degradado por catabolismo ou, ainda ser degradado por co-metabolismo (MONTEIRO, 2001).

A perda da diversidade microbiana dos solos é prejudicial à conservação do ambiente, pois os microrganismos, além da capacidade de mineralizar compostos organoclorados, se constituem num recurso genético que pode ser usado para biorremediação ou biorrecuperação de solos contaminados por agrotóxicos. Inicialmente, testes de bancada em laboratório, com solos ou águas contaminadas, podem determinar a presença ou a ausência de microrganismos degradadores; certos testes podem também revelar fatores ambientais que limitam a biodegradação do agrotóxico, como pH extremamente baixo ou alto.

A capacidade para metabolizar compostos aromáticos e usá-los como fonte de carbono e energia para o crescimento é exibida por muitos microrganismos, sendo alguns mais ou menos versáteis do que outros, nas opções de enzimas e rotas bioquímicas que possuem à sua disposição. O metabolismo desses compostos é raramente restrito a uma simples espécie de microrganismo (LEE et al., 1984) e em condições de campo, nos solos, a interação de consórcios microbianos desempenha tarefa vital nas transformações de muitos agrotóxicos (SLATER e LOVATT, 1982).

A ocorrência e abundância de microrganismos em um ambiente são determinadas pela disponibilidade de nutrientes, bem como por vários fatores físico-químicos como pH, potencial redox, temperatura, textura e umidade do solo. Uma limitação imposta por alguns destes fatores pode inibir a biodegradação e, conseqüentemente, causar a persistência de um agrotóxico no ambiente.

A disponibilidade de oxigênio, conteúdo de matéria orgânica, disponibilidade de nitrogênio e biodisponibilidade são fatores particularmente significantes no controle da biodegradação de agrotóxicos. Em ecossistemas terrestres, existem três locais principais onde a contaminação pode ocorrer: superfície dos solos, zona não saturada (movimento da água não espontâneo), e zona saturada (movimento da água espontâneo). A

disponibilidade de oxigênio e matéria orgânica varia nestas zonas, diminuindo com a profundidade; assim como a atividade de biodegradação.

A demonstração direta da biodegradação de um agrotóxico é realizada pelo isolamento de microrganismos do solo que possuam a capacidade de degradar os agrotóxicos em culturas puras ou consórcios microbianos.

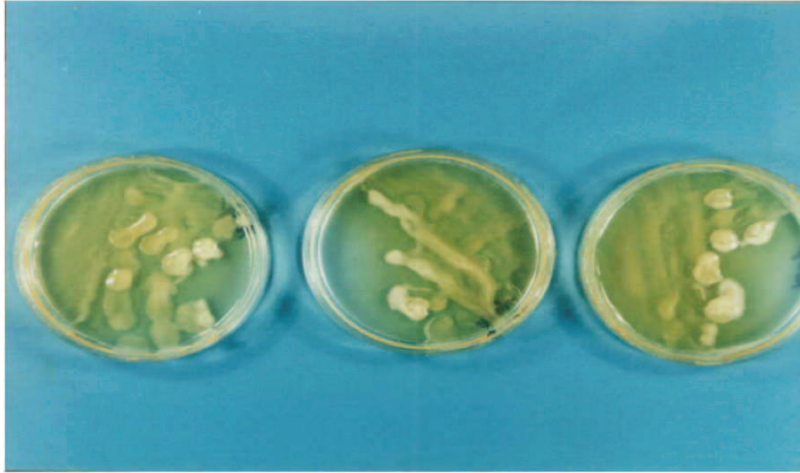
A cinética de degradação de um agrotóxico por uma cultura pura ou consórcio microbiano, no qual o agrotóxico é a única fonte de carbono (C) e energia no meio, é estabelecida por: (1) uma fase inicial (fase lag) de adaptação dos microrganismos ao novo substrato; (2) uma fase de crescimento acelerado (fase log), em que há um grande consumo de energia; (3) uma fase estacionária, em que a multiplicação dos microrganismos é desacelerada pela diminuição da fonte de C (agrotóxico); e (4) uma fase de declínio ou morte, na qual há o esgotamento da fonte de carbono.

A biodegradação pode também ser acelerada como consequência de processos naturais de adaptação metabólica, afetando adversamente o controle de pragas, mas é um dos maiores mecanismos para a degradação e detoxificação no controle da poluição. As condições físicas e químicas do solo favoráveis à atividade microbiana poderão resultar no aparecimento da biodegradação acelerada (SILVA, 2001).

#### 4. MICRORGANISMOS DO SOLO ENVOLVIDOS EM PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO DE AGROTÓXICOS

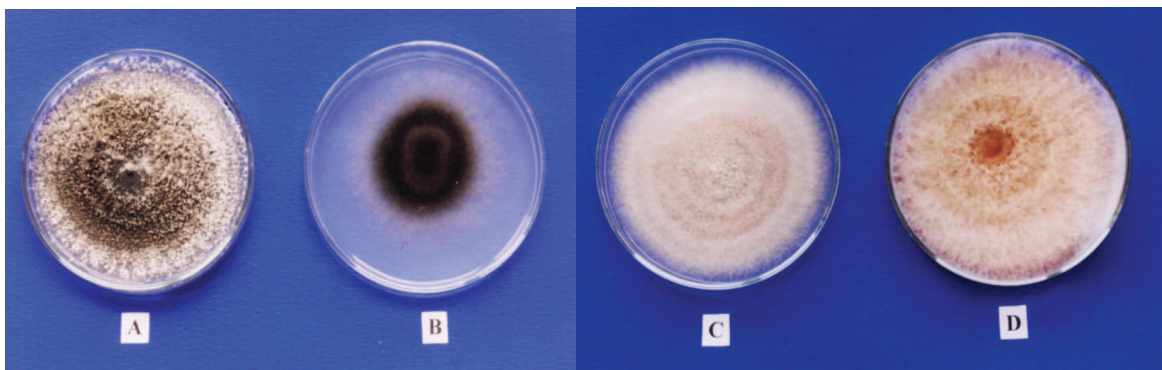
Em diversos países, os principais gêneros de bactérias isolados de áreas cultivadas com arroz são: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium* e *Pseudomonas* (ROGER; BHUIYAN, 1995, citados por PINGALI; ROGER (1995) (Tabela 2). Em um PLANOSSOLO HIDROMÓRFICO Eutrófico Típico (EMBRAPA, 1999) cultivado com arroz irrigado por inundação na Estação Experimental Terras Baixas (ETB) da Embrapa Clima Temperado, Mattos e Thomas (1996) identificaram uma bactéria degradadora do herbicida clomazona: *Pseudomonas fluorescens* (Figura 1). Também na ETB, fungos isolados de amostras de palha de arroz irrigado por inundação, coletadas de parcelas dessecadas com o herbicida glifosato, foram identificados como degradadores de glifosato: *Nigrospora sphaerica*, *Cochliobolus heterostrophus*, *Fusarium anthophilum* e *Micelia sterilia* (Figura 2) (MATTOS, 2001).





**Figura 1.** Plaqueamento de bactéria degradadora do herbicida clomazona: *Pseudomonas fluorescens*.

FOTO: Maria Laura Turino Mattos



**Figura 2.** Plaqueamento de fungos degradadores do herbicida glifosato: *Nigrospora sphaerica* (A), *Cochliobolus heterostrophus* (B), *Fusarium anthophilum* (C) e *Micelia sterilia* (D).

FOTO: Maria Laura Turino Mattos

Em condições de terras altas, bactérias e fungos são considerados os principais responsáveis pelas transformações dos agrotóxicos nos solos. Em solos alagados, os fungos estão envolvidos, mas são provavelmente os

menos importantes que as microalgas que têm uma tarefa significativa (RAO; SETHUNATHAN, 1974, citados por PINGALI; ROGER, 1995).

Na Coleção de Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado (CMMCT), podem ser encontradas 43 acessos (Tabela 3) que mostram eficácia na degradação de resíduos de seis herbicidas (clomazona, glifosato, quincloraque e pirazolsufuron-etil) e dois inseticidas (carbofurano e carbosulfano) (MATTOS et al., 2000), usados com frequência na cultura do arroz irrigado por inundação. Estes microrganismos podem ser usados para remediar solos e recursos hídricos contaminados por resíduos de agrotóxicos, bem como para indicar a presença de resíduos-traços em matrizes ambientais e a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

Em estudos realizados por Mattos et al. (2003), visando conhecer a diversidade microbiana de solos hidromórficos de ecossistemas de terras baixas, foram identificadas 17 cepas bacterianas degradadoras de herbicidas e inseticidas, que encontram-se depositadas na CMMCT. Assim, em PLANOSSOLO HIDROMÓRFICO Eutrófico Típico e GLEYSSOLO HÁPLICO Ta Eutrófico foram identificadas bactérias degradadoras de clomazona: uma espécie da Família Enterobacteriaceae e duas linhagens de *Bacillus megaterium*, de glifosato: duas espécies de *Pseudomonas* e uma espécie de *Sinorhizobium* ainda não descritas na literatura, de pirazolsufuorn-etil: seis espécies de *Pseudomonas* e uma de *Raoultella planticola* e cinco espécies de *Pseudomonas* degradadoras de carbofurano. Os resultados demonstraram uma rica diversidade de espécies bacterianas degradadoras de agrotóxicos, com predominância do gênero *Pseudomonas* em solos hidromórficos.

A diversidade microbiana, presente nos solos de lavouras de arroz irrigado, contribui efetivamente para que este sistema de produção não contamine os recursos solo e água. Na rizosfera das plantas de arroz irrigado, existem microrganismos (bactérias, fungos e actinomicetos) que, por meio de seus exsudatos, formam biofilmes que funcionam como um filtro onde os resíduos de agrotóxicos são degradados. Esta condição, associada com a flora e a fauna aquáticas estabelecidas neste ecossistema, reduz os impactos ambientais decorrentes do uso de agrotóxicos nestas lavouras.

É constatado que, na rizosfera, os processos degradativos microbiológicos operam mais rapidamente do que os químicos. Desse modo, a degradação é modelada na zona das raízes, primariamente como um processo biológico. Na zona subterrânea, ou na superfície do solo, as rotas de degradação química são mais importantes (TORSTENSSON, 1980).



Tabela 2.  
Microrganismos degradadores de agrotóxicos isolados de campos de arroz.

Agrotóxico	Microrganismo	Referência
Hexacloro benzeno	<i>Clostridium</i> sp.	Sethunathan et al., 1969
Carbaril	<i>Pseudomonas cepacia</i>	Venkateswarlu et al., 1980
Carbofurano	<i>Arthrobacter</i> sp.	Rajagopal et al., 1984
	<i>Bacillus</i> sp.	Rajagopal et al., 1984
	<i>Micrococcus</i> sp.	Rajagopal et al., 1984
Diazinon	<i>Arthrobacter</i> sp.	Sethunathan & Pathak, 1971
	<i>Arthrobacter</i> sp.	Sethunathan; Adhya; Raghu, 1982
		Yoshida, 1975
	<i>Flavobacterium</i>	Sethunathan, 1972
	<i>Flavobacterium</i> sp.	Sethunathan & MacRae, 1969
Paration	<i>Steptomyces</i> sp.	
	<i>Bacillus</i> sp.	Siddaramappa et al., 1973
	<i>Flavobacterium</i> sp.	Sethunathan & Yoshida, 1973
Pentaclorofenol	<i>Pseudomonas</i> sp.	Siddaramappa et al., 1973
	<i>Mycobacterium</i> sp.	Suzuki, 1983
	<i>Pseudomonas</i> sp.	Watanabe, 1973

Fonte: Roger e Bhuiyan (1995)

Tabela 3.  
Acessos de bactérias degradadoras de agrotóxicos isoladas de solos sob diferentes sistemas de manejo.

Agrotóxicos	Acessos	Sistemas de Manejo do Solo
Clomazona	13	cultivo mínimo <sup>1</sup> , mata nativa <sup>4</sup> , campo nativo
Glifosato	3	cultivo mínimo <sup>1</sup>
Quincloraque	6	cultivo mínimo <sup>1</sup>
Pirazolsufuron-etil	7	pré-germinado <sup>2</sup>
Carbofurano	6	convencional <sup>3</sup>
Carbosulfano	8	convencional <sup>3</sup>

<sup>1</sup> semeadura direta em solo previamente preparado

<sup>2</sup> semeadura de sementes pré-germinadas em solo alagado preparado com arações, gradagens, aplainamento e alisamento

<sup>3</sup> semeadura em solo envolvendo o preparo inicial com operações mais profundas e, o secundário com operações mais superficiais

Fonte: Mattos et al. (2000).

Em estudo com solos inundados sem plantas, menos do que 5,5% do  $^{14}\text{C}$  de paration marcado foi liberado como  $^{14}\text{CO}_2$ , em duas semanas, enquanto que 22,5% foi liberado em solos plantados (RAJASEKHAR; SETHUNATHAN, 1983, citados por PINGALI; ROGER, 1995). Estes autores verificaram também que o efeito rizosférico sobre a decomposição de agrotóxicos não é devido somente à atividade microbiológica. A mineralização de paration na rizosfera de arroz foi mais pronunciada no estágio de 'seedling' do que nos estádios de máxima floração e iniciação da panícula; o grau do efeito rizosférico depende da cultivar de arroz e foi relacionado à atividade da enzima oxidase nas raízes de arroz, não dependendo, necessariamente, da biomassa da planta (RAJASEKHAR; SETHUNATHAN, 1983).

Quando é estabelecida uma comparação entre a estabilidade de agrotóxicos em solos inundados com solos não-inundados, observa-se uma maior persistência em solos não-inundados do que em inundados (WATANABE, 1973; SETHUNATHAN; SIDDARAMAPPA, 1978, citados por PINGALI; ROGER, 1995). Este comportamento é devido à relação entre o potencial redox do solo (Eh) e a degradação do agrotóxico.

Estudo sobre a relação entre o Eh e a taxa de degradação de trifluralina, usando um sistema para o controle do potencial redox de solos em suspensão, constatou que a exclusão de  $\text{O}_2$  pela inundação do solo iniciou uma rápida degradação de trifluralina somente quando o Eh diminuiu para entre +150 e +50 mV (WILLIS; WANDE; SOUTHWICK, 1974, citados por PINGALI; ROGER, 1995).

O Eh é a medida da tendência de um ambiente para oxidar ou reduzir um substrato. Assim, diferentes aceptores finais de elétrons que são necessários para organismos específicos estarão disponíveis nestas condições para organismos. A Tabela 4 ilustra o potencial redox nos quais vários substratos são reduzidos, e a atividade de diferentes grupos de microrganismos em um solo.

Tabela 4.  
Potencial redox (Eh) nos quais os substratos são reduzidos no solo.

Potencial Redox / mV	Reação	Grupo de Microrganismo
+800	$\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	Aeróbios
+740	$\text{NO}_3 \rightarrow \text{N}_2, \text{N}_2\text{O}$	Anaeróbios Facultativos
-220	$\text{SO}_4 \rightarrow \text{S}^{2-}$	Anaeróbios
-300	$\text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4$	Anaeróbios

Fonte: Pepper e Josephson (1996)

Na revisão sobre degradação microbiana apresentada por ALEXANDER (1969), citada por BROWN (1978), 15 herbicidas estão tabulados com os nomes dos microrganismos identificados como seus degradadores.

A revisão de KAUFMAN; KEARNEY (1970) lista 42 espécies de bactérias e fungos degradadores de simazina (6-cloro-N,N'-dietil-1,3,5-triazina-2,4-diamina), atrazina [6-cloro-N-etil-N'-(1-metiletil)-1,3,5-triazina-2,4-diamina] e outros dez herbicidas. Espécies de 16 gêneros de bactérias, dois de actinomicetos e oito de fungos podem ser tabuladas pela sua capacidade de degradar 20 dos herbicidas mais comumente usados (BROWN, 1978) (Tabela 5).

Tabela 5.  
Microrganismos do solo que degradam herbicidas de estrutura molecular simples.

Microrganismos	Herbicidas
<b>BACTÉRIAS</b>	
<i>Achromobacter</i> spp.	MCPA - 2,4,D - 2,4,5,T –
<i>Agrobacterium</i> sp.	Dalapon – TCA
<i>Alcaligenes</i> sp.	Dalapon
<i>Arthrobacter globiformis</i>	2,4,D
<i>Arthrobacter</i> spp.	MCPA-2,4D-Dalapon-TCA- Endothall
<i>Azotobacter</i> sp.	Allyl Alcohol
<i>Brevibacterium</i> sp.	2,4,5,T
<i>Crynebacterium</i> sp.	MCPA - 2,4,D – PCP
<i>Flavobacterium</i> spp.	MCPA - 2,4,D – Dalapon
<i>Micrococcus</i> sp.	Dalapon
<i>Mycoplana</i> sp.	MCPA - 2,4,D -2,4,5,T
<i>Pseudomonas putida</i>	Allyl Alcohol
<i>P. dehalogenans</i>	Dalapon - TCA -
<i>P. cruciviae</i>	2,4,D - 2,4,5,T – PCP
<i>Pseudomonas</i> spp	MCPA-2,4,D-Dalapon-TCA-. PCP
<i>Sporocytophaga congregata</i>	2,4,D
<b>ACTINOMICETOS</b>	
<i>Nocardia</i> spp.	2,4D-MCPB-Dapalon-TCA- Allyl Alcohol
<i>Streptomyces</i> spp.	2,4,D – Dalapon
<b>FUNGOS</b>	
<i>Aspergillus niger</i>	MCPA - 2,4,D – MCPB
<i>Aspergillus</i> sp.	Dalapon
<i>Cephaloasca fragrans</i>	PCP
<i>Fusarium</i> sp.	Dichlobenil
<i>Geotrichum</i> sp.	Dichlobenil
<i>Penicillium</i> spp.	Dalapon - PCP– Dichlobenil
<i>Trichoderma viride</i>	Dalapon – TCA
<i>Trichoderma</i> spp.	PCP - Dichlobenil - Allyl Alcohol

Fonte: Brown (1978)

Os agrotóxicos 2,4-D, parationa e carbofurano têm sido extensivamente estudados com respeito à degradação por microrganismos. Acessos bacterianos degradadoras desses agrotóxicos têm sido isoladas, bem como os genes responsáveis têm sido clonados e sequenciados. O acesso degradador mais estudada para 2,4-D é *Alcaligenes eutrophus* JMP134; para paration, são *Flavobacterium* sp. ATCC 27551 e *Pseudomonas diminuta* MG, e, para carbofurano, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* sp., *Artrobacter* spp., *Micrococcus* sp., *Azospirillum lipoferum* e *Streptomyces* spp. (Head et al., 1990). O autor destaca que *Flavobacterium* sp. acesso MS2d, isolada do solo, também exibiu capacidade para degradar o inseticida carbofurano.

Uma comunidade microbiana (*Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Flavobacterium* sp., e *Acinetobacter calcoaceticus*) isolada do sistema radicular do trigo, quando exposta repetidas vezes ao herbicida mecoprop [2-(2-metil-4-clorofenoxi)ácido propiônico], foi capaz de diminuir a fase de adaptação de 30 dias para menos de 24 horas, com uma taxa de crescimento específico de 0,087 h<sup>-1</sup> (LAPPIN et al., 1985). Por sua vez, um consórcio composto de sete acessos de *Pseudomonas* spp., isolado de um solo tratado com alaclor [2-cloro-N-(2,6-dietil-fenil)-N-(metoximetil) acetamida], após um período de 84 dias de enriquecimento, foi capaz de transformar alaclor até a concentração de 50 g mL<sup>-1</sup> (SUN et al., 1990).

Em outro estudo Oh e Tuovinen (1991) isolaram um consórcio bacteriano de um solo com histórico prévio de tratamento com os herbicidas fenoxi 2,4-diclorofenoxi ácido acético (2,4-D) e 2-(2-metil-4-clorofenoxi)ácido propiônico (MCP). Em cultivos com pH ajustado, o 2,4-D foi degradado pelo consórcio, enquanto que somente cerca de 40% do 2,4-D foi utilizado quando não foi feito o ajuste de pH (3,5-3,7).

Já foi demonstrado que *Pseudomonas* sp. cepa CLZG1, isolada da rizosfera do arroz cultivado em sistema de inundação, apresenta alta taxa de crescimento específico ( $\mu$ ) e tempo de geração ( $T_g$ ), na presença de 200 mg L<sup>-1</sup> de formulação contendo clomazona como única fonte de carbono (MATTOS; THOMAS, 1996). Os pesquisadores verificaram que isso se refletiu em maior número de células na fase de crescimento exponencial.

A versatilidade bioquímica observada em espécies do gênero *Pseudomonas* é ampliada pela presença de plasmídeos degradadores, os quais são elementos extracromossômicos que codificam enzimas necessárias ao catabolismo desses compostos.

Bactérias do gênero *Pseudomonas* têm a capacidade de utilizar um grande número de compostos orgânicos complexos e raros como fonte de carbono e energia. Além disso, *Pseudomonas* são capazes de desenvolver

rapidamente novas atividades metabólicas em resposta a mudanças nas condições ambientais (BARBIERI, 1990). Como exemplo, espécies de *Pseudomonas* degradadoras de carbofurano acumulam polihidroxibutirato (PHB) a partir da utilização de sacarose como substrato (CROCHEMORE et al., 2012).

Em trabalho realizado por Mattos e Thomas (1997), no qual foi avaliada a interação da população microbiana de um Planossolo cultivado com arroz irrigado, com o herbicida clomazona, os dados caracterizaram a detecção de duas populações de microrganismos, uma sensível e outra resistente a doses superiores e inferiores a 200 mg L<sup>-1</sup> de uma formulação comercial contendo clomazona.

Os resultados da investigação de Mervosh et al. (1995) sugerem que a mineralização do clomazona (formulação CE) pela cepa CLZG1 (MATTOS et al., 1997), tenha ocorrido após 28 dias de cultivo em fermentador, com uma temperatura de 30 °C, quando se verificou uma redução de 64,60% no valor da área do pico de clomazona, sendo estes resultados similares aos obtidos no trabalho destes autores.

A obtenção de bactérias degradadoras dos herbicidas clomazona (formulação 360 CS) e quincloraque, em solo cultivado com arroz irrigado, no RS, foi objeto de um estudo realizado por Mattos et al. (1999). Os autores constataram a existência de bactérias degradadoras desses herbicidas em sistema de produção de arroz irrigado no qual houve uso frequente destes.

A degradação do herbicida clomazona por uma espécie de *Pseudomonas* pode, inicialmente, indicar que outros componentes da população microbiana também possam degradar este herbicida. Esta abordagem ressalta a importância da manutenção da diversidade microbiana nos solos, como forma de preservar este recurso natural, permitindo a exploração de uma agricultura sustentável econômica e ambientalmente.

Em estudo de avaliação da degradação do herbicida diuron utilizando extração em fase sólida, linhagens de *Acinetobacter baumannii* apresentaram, em cultura pura, capacidade de degradação desse ingrediente ativo (ROQUE et al., 1998).

O herbicida atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,3,5-triazina) é usado extensivamente em muitas partes do mundo para o controle de várias plantas daninhas, principalmente em sistemas de produção de milho. No RS, o manejo do arroz-vermelho tem sido realizado por meio de rotação de culturas e do uso de herbicidas, entre os quais se destaca a utilização de atrazina. Existem algumas evidências de que a atrazina possa ser um químico agressor do sistema endócrino animal (MOORE; WARING, 1998). Níveis-traços de resíduos de atrazina são frequentemente

detectados em amostras de águas superficiais e poços artesianos (GOODRICH et al., 1991). Uma vez em aquíferos, a atrazina é persistente (WIDMER; SPALDING, 1995). Por essa razão, existe um grande interesse em desenvolver sistemas agrícolas que utilizem práticas de manejo as quais minimizem o potencial de poluição das fontes de águas superficiais e subterrâneas, pela atrazina (TOPP et al., 2000).

Existem vários relatos da rápida mineralização de atrazina em solos agrícolas (BARRIUSO et al., 1996; GAN et al., 1996; TOPP et al., 1996; VANDERHEYDEN et al., 1997, citados por TOPP et al., 2000), e uma grande variedade de bactérias mineralizadoras de atrazina, incluindo membros do gênero *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Agrobacterium*, têm sido isoladas de solos com uso frequente desse herbicida (ASSAF; TURCO, 1994); MANDELBAUM et al., 1995; MIRGAIN et al., 1993; RADOSEVICH et al., 1995; STRUTHERS et al., 1998; YANZE-KONTCHOU; GSCHWIND, 1994, citados por TOPP et al., 2000). *Nocardioides* sp., isolada de solos tratados com atrazina, degrada uma série de herbicidas *s*-triazinas por meio de uma nova hidrolase *s*-triazina (TOPP et al., 2000).

Algumas bactérias isoladas capazes de degradar atrazina têm sido classificadas como anaeróbias facultativas (JESSEE et al., 1983) que podem reduzir nitrato. A taxa de degradação de atrazina é mais lenta sob condições de baixa oxigenação do que sob condições aeróbias em sedimentos de estuários e de áreas alagadas (CHUNG et al., 1995; RO; CHUNG, 1995, citados por PAPIERNIK; SPALDING, 1998).

Com relação ao espectro de microrganismos, não é exagero afirmar que a maioria dos xenobióticos pode ser metabolizada — embora, em diferentes graus — sob condições apropriadas desde que, naturalmente, o composto não seja tóxico letalmente. No entanto, compostos normalmente tóxicos como monóxido de carbono, cianida, tolueno e fluoroacetato podem ser metabolizados por bactérias (NEILSON, 1994).

## 5. REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVENDO OS MICRORGANISMOS

Do ponto de vista químico, microrganismos poderiam ser vistos simplesmente como catalisadores de reatores químicos. Porém, microrganismos cada vez mais são utilizados como catalisadores de reações químicas específicas, visto às dificuldades de instabilidade ou esterilidade dos substratos ou produtos, não podem ser realizadas economicamente por meios estritamente químicos. Procedimentos de imobilização de micróbios ou enzimas produzidas por microrganismos já tornou possível o desenvolvimento de processos de fluxo contínuo com baixo custo. Também o uso de microrganismos para os seguintes tipos de processos podem ser considerados (CRUEGER; CRUEGER, 1982):



- Produção de biomassa microbiana
- Produção de metabólitos primários e secundários
- Biotransformação de químicos
- Produção de substâncias não microbianas por organismos geneticamente modificados

As transformações sofridas pelos contaminantes orgânicos no solo, mediada pelos microrganismos, vão de simples remoção de átomos à completa mineralização, como resultado de reações bioquímicas (enzimas) diversas do tipo oxidativas, redutivas e hidrolíticas, dos seguintes modos: (a) diretamente no metabolismo celular central para moléculas com massa molar menor que 600, pelo qual os microrganismos obtêm energia e carbono para o crescimento (catabolismo); (b) transformação catalisada por enzimas extracelulares que geram metabólitos com estrutura química mais simples e facilmente metabolizada e, (c) por meio de transformações incidentes de processos metabólitos periféricos chamados “co-metabolismos”. Neste caso, a transformação é feita por um único microrganismo que não ganha energia ou nenhum benefício dessa transformação para o crescimento (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000).

As transformações microbianas envolvem a oxidação de compostos orgânicos pela introdução de um grupo carboxílico derivado do oxigênio molecular, sendo reações catalizadas por enzimas não específicas monooxigenase e dioxigenase que inserem um ou ambos os átomos de oxigênio molecular no substrato. Como exemplo, enzimas oxigenases podem catalizar a remoção de ampla variedade de substituintes como caboxil, nitro, cloro, éter e frações sulfônicas. As hidrolases microbianas, certas como esterases, fosfatases e lípases podem ser usadas para detoxificar ou solubilizar uma variedade de contaminantes. A dehalogenação redutiva, onde o halogênio é substituído por um hidrogênio, sob condições sulfogênicas e metanogênicas, é catalizada por uma variedade de sistemas microbianos anaeróbios. Por sua vez, muitos microrganismos sintetizam enzimas que catalizam a redução de grupos nitro para o nível amino. Como exemplo, dinitrotolueno para diaminotolueno. Essa redução pode ocorrer sob condições aeróbias e anaeróbias e, frequentemente, produzem metabólitos resistentes para futura degradação (ANDERSON, 1995).

Com relação à degradação aeróbia de compostos aromáticos pelos microrganismos, a capacidade para metabolizá-los e usá-los como fonte de carbono e energia para o crescimento é exibida por muitos, sendo alguns mais ou menos versáteis do que outros nas opções de enzimas e rotas bioquímicas que possuem à sua disposição. Essa geração de energia durante o metabolismo reflete a variedade de reações químicas realizadas pelos microrganismos na

transformação das moléculas e elementos químicos para sintetizar compostos e acoplar reações que permitem a construção das estruturas celulares, catalisadas por enzimas.

Enzimas necessárias para o metabolismo de um substrato podem ser induzidas pelo crescimento sobre compostos estruturalmente não relacionados. Como exemplo, é a degradação de tricloroetileno por diferentes cepas de *Pseudomonas sp.*, que crescem na presença de fenol ou com tolueno (NEILSON, 1994).

Os processos de humificação e mineralização dos restos orgânicos também ocorrem sob a ação de enzimas específicas que são encontradas no solo, liberadas por animais, raízes de plantas e microrganismos ou ainda, estão presentes nas células mortas de restos orgânicos, sendo denominadas de exoenzimas. Por sua vez, as endoenzimas agem nas células microbianas em proliferação (CERRI et al., 1992).

No solo, os grupos enzimáticos mais importantes são: asparaginase, celulase, deamidase, desidrogenase, glicosidade, lipase, nucleotidase, fenoloxidase, fosfatase, fitase, protease, pirofosfatase e urease. Essas enzimas são aprisionadas nos colóides inorgânicos e orgânicos do solo. Por essa razão, o solo tem um grande reservatório de enzimas extracelulares não diretamente associadas com a biomassa microbiana (PAUL; CLARK, 1988).

Compostos orgânicos de origem vegetal caracterizam-se pela natureza variada e complexa, sendo dominados pelos carboidratos, principalmente celulose e lignina, pelos compostos nitrogenados, como proteínas e aminoácidos, além de outros constituintes menores, que sofrem transformações bioquímicas diversas, mediadas pelos microrganismos e suas enzimas (SIQUEIRA; FRANCO, 1988), por exemplo, a ciclagem de nutrientes em solos.

As atividades das enzimas associadas ao ciclo do carbono (glucosidase), do fósforo (fosfatase ácida) e do enxofre (arilsulfatase) são indicadores biológicos sensíveis para identificar alterações no solo de acordo com os diferentes sistemas de uso da terra (MATSUOKA et al., 2003), bem como para a ciclagem de nutrientes. Com relação às enzimas do ciclo do nitrogênio, como nitrato redutase, nitrogenase e glutamina sintetase, essas podem auxiliar programas de seleção genética de plantas visando maior eficiência na utilização do nitrogênio (N). Como exemplo, a determinação da atividade da enzima glutamina sintetase utilizada como parâmetro na seleção genética de milho (MACHADO et al., 2002).

Microrganismos ou suas enzimas são ainda aplicáveis no âmbito industrial em processos biotecnológicos. Destacamos particularmente os termófilos, alcalófilos, acidófilos, halófilos, barófilos e psicrófilos, embora outros grupos de microrganismos de “ambientes extremos” como cepas resistentes a radiação e metais pesados também possuem

tarefas potencialmente significantes na biotecnologia. No grupo de enzimas destacamos as proteases, celulasas, amilases,  $\beta$ -galactosidases, ciclodextrin glicosiltransferase, glucose isomerase, álcool dehidrogenase, hidrogenases, endonucleases restritivas, L-asparagina, pectinases, xilanases, nucleases e malato dehidrogenase, que são exploradas comercialmente em vários processos industriais e ambientais (HEBERT; COLD, 1986).

De acordo com a classificação internacional, as enzimas são agrupadas em seis grandes classes (Tabela 6) baseadas no tipo de reação que é catalisada (PELCZAR et al., 1980):

Tabela 6.  
Principais classes de enzimas e suas reações químicas catalisadas.

Classes	Reações Catalisadas
Óxido-redutase (exemplo: desidrogenase alcoólica)	reações de transferência de elétrons
Transferase (exemplo: transcetolase)	transferência de grupos funcionais
Hidrolase (exemplo: galactosidade)	reações de hidrólise
Liase (exemplo: aconitato-hidratase)	adição a ligações simples
Isomerase (exemplo: triose-fosfato isomerase)	reações de isomerização
Ligase (exemplo: acetilcoenzima A carboxilase) (sintetase)	formação de ligações com clivagem de ATP

Fonte: Pelczar et al., 1980

Essas enzimas responsáveis pela catálise das reações associadas com o processo vital são afetadas pelas condições físicas e químicas do meio, do substrato e outros fatores que influenciam o crescimento dos microrganismos. Assim como há um pH e uma temperatura ótimos para haver crescimento, estes são os ótimos de pH e temperatura para a atividade de cada enzima e para o total de enzimas que a célula produzirá (PELCZAR et al., 1980).

Em estudo de Alexandrino et al. (2007), foram utilizados resíduos de laranja como substrato para a obtenção de enzimas hidrolíticas e oxidativas envolvidas na degradação de materiais lignocelulósicos, tais como: lacase, manganês peroxidase, xilanase e endo-1,4-glucanase, por *Pleurotus ostreatus*. Além do desenvolvimento do fungo no resíduo, esse meio proporcionou a obtenção de elevadas atividades de enzimas com grande potencial de uso industrial, especialmente lacase e manganês peroxidase.

A seleção de enzimas e microrganismos para aplicações em processos industriais a partir de resíduos agrícolas, por ser economicamente viável e de grande interesse, tem sido investigado por vários autores (MELO et. al., 1996; SETTE; DURAN, 1996; AOKI; DURAN, 1996).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os microrganismos do solo, em função de suas importantes funcionalidades, cada vez mais serão prospectados para aplicações na agricultura e indústria, e com grande potencial de expansão para outros setores, devido às novas tendências de produção que buscam a redução de custos, a segurança dos alimentos e do ambiente. As exigências da sociedade impulsionam os estudos para a busca de soluções tecnológicas de forma sustentável, onde o uso de microrganismos para a realização de reações químicas pode ser explorado como uma ferramenta moderna e versátil nas investigações químicas. Em especial, podem ser usados para a degradação de compostos orgânicos e recuperação de recursos hídricos, edáficos contaminados por químicos. Finalmente, acredita-se que somente com a conservação dos solos é que a diversidade desse recurso genético poderá ser conhecida e explorada em sua magnitude, promovendo o aumento do desenvolvimento de processos tecnológicos.

## AGRADECIMENTOS

Aos pesquisadores *Luis Antonio Suita de Castro* e *José Francisco da Silva Martins*, pela revisão do capítulo.

## LITERATURA RECOMENDADA

ACCIOLY, A. M. A; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; V. ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. Tópicos em ciência do solo / publicação da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. - vol.1, (2000) - Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. 352 p.

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. New York: J. Wiley and Sons, 1961. 472 p.

ALEXANDRINO, A. M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 364-368, 2007.

AOKI, A. H.; DURRANT, L. R.; Seleção de microrganismos ligninolíticos e estudo da produção das enzimas lignocelulolíticas. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1996. Campinas. **Anais**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1996. 256p. (Embrapa-CNPMA. Documento, 5).

AZEVEDO, J. L. Biodiversidade microbiana e potencial biotecnológico. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de **Ecologia microbiana**. Jaguariuna: Embrapa-CNPMA, 1998, p. 445-461.

BARBIERI, S. M. Regulation and expression of degradative plasmids in *Pseudomonas*. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 42, n. 5/6, p. 317-324, 1990.

BETTS, W.B. **Biodegradation: natural and synthetic materials**. London: Springer-Verlag, 1991. 238 p.

BROWN, A. W. A. **Ecology of pesticides**, New York : J. Wiley, 1978. 525 p.

CARDOSO, E. J. B. N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas : Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 33-57.

COUTINHO, H. L. C.; OLIVEIRA, V. M.; MANFIO, G. P. Diversidade microbiana em amostras ambientais. In: GARAY, I. E. G.; DIAS, B. F. S. **Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais: avanços conceituais e revisão de novas metodologias de avaliação e monitoramento**. Petrópolis: Editora Vozes, 2001. 430 p.

CROCHEMORE, A. G.; MATTOS, M. L. T.; VENDRUSCOLO, C. T.; CASTRO, L. A. S. de; MOREIRA, A. S. Identification of pesticide-degrading *Pseudomonas* strains as poly-  $\beta$ -hydroxybutyrate producers. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 85, p. 15144-15149. 2012.

CRUEGER, W; CRUEGER, A. **Biotechnology: a textbook of industrial microbiology**. Madison: Science Tech. 1982. 308 p.

DELMONT, T. O.; ROBE, P.; CECILLON, S.; CLARK, I. M.; CONSTANCIAS, F.; SIMONET, P.; HIRSCH, P. R.; VOGEL, T. M. Accessing the oil metagenome for studies of microbial diversit. **Applied Environmental Microbiology**, v. 77 n. 4, p. 1315-1324. 2011.

FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Aplicações da PCR em ecologia microbiana. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de **Ecologia microbiana**. Jaguariuna: Embrapa-CNPMA, 1998, p. 445-461.

GOODRICH, J. A., LYKINS, B. W., CLARK, R. M. Drinking water from agriculturally contaminated ground water. **Journal Environmental Quality**, Madison, 20, p. 707-717, 1991.

HEAD, I. M.; CAIN, R. B.; SUETT, D. L. Molecular aspects of enhanced microbial degradation of pesticides. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE-PESTS AND DISEASES, 3., 1990, **Proceedings...** 1990. p. 907-916.

HERT, R. A.; COLD, G. A. (Ed.). **Microbes in extreme environments**. London: Academic Press, 1986. 329 p. (Special publications of the Society for General Microbiology, 17).

JESSEE, J. A.; BENOIT, R. E.; HENDRICKS, A. C.; ALLEN, G. C.; NEAL, J. L. Anaerobic degradation of cyanuric acid, cysteine, and atrazine by a facultative anaerobic bacterium. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 45, p. 97-102, 1983.

KAUFMAN, D. D.; KEARNEY, P. C. **Microbial transformations in the soil**. New York: Dekker, p. 29-60, 1970.

LAPPIN, H. M.; GREAVES, M. P.; SLATER, H. Degradation of the herbicide mecoprop [2-(2-methyl-4-chlorophenoxy) propionic acid] by a synergistic microbial community. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 49, n. 2, p. 429-33, 1985.



LEE, A. EPTC degrading microorganisms isolated from a soil previously exposed to EPTC. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.16, p. 907-915, 1984.

MATSUOKA, M; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 27, n. 3, Viçosa, 2003.

MATTOS, M. L. T.; THOMAS, R. W. S. P. Degradation of the herbicide clomazone by *Pseudomonas fluorescens*. In: INTERNATIONAL BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION SYMPOSIUM, 10., 1996, Hamburg. **Anais...** Hamburg: Dechema, 1996. p. 623-630.

MATTOS, M. L. T.; THOMAS, R. W. S. P. População bacteriana em solo cultivado com arroz irrigado e tratado com o herbicida clomazone. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 22., 1997, Balneário Camboriú. **Anais...** Itajaí: EPAGRI, 1997. p. 556.

MATTOS, M. L. T.; THOMAS, R. W. S. P.; PERALBA, M. C. R.; AYRES, S. S. Obtenção de bactérias degradadoras de herbicidas no sistema plantio direto de arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1., REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 693-696.

MATTOS, M. L. T.; SANTOS, S. C. A.; SANTOS, F. O.; SANTOS, F. M.; MALÜK, L. S. Coleção de culturas de bactérias degradadoras de pesticidas da Embrapa Clima Temperado. **Agropecuária Clima Temperado**, Pelotas, v. 3, n. 2, p. 261-268, 2000.

MATTOS, M. L. T.; MACHADO, M. I.; SANTOS, F. O.; MARTINS, F. S.; SANTOS, S. C. A. Microrganismos do solo envolvidos na degradação dos herbicidas clomazone e glifosate, em lavouras de arroz irrigado, no Rio Grande do Sul. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 2., 2001, Campinas. **Resumos...** Campinas: EMBRAPA-CNPMA, 2001. p. 361-364.

MATTOS, M. L. T.; SANTOS, S. C. A.; SANTOS, F. O.; SANTOS, F. M. Diversidade bacteriana em solos hidromórficos do ecossistema terras baixas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24., 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: UNESP, 2003. 1 CD-ROM.

MELO, I. S.; FAULL, J. L.; GRAEME-COOK, K. A. Isolamento de linhagens melhoradas de *Trichoderma harzianum* para degradação de celulose. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1996. Campinas. **Anais**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1996. 256p. (Embrapa-CNPMA. Documento, 5).

MERVOSH, T. L.; SIMS, G. K.; STOLLER, E. W. Clomazone fate in soil as affected by microbial activity, temperature, and soil moisture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, n. 2, p. 537-5443, 1995.

MONTEIRO, R. T. R Biodegradação de pesticidas em solos brasileiros. In: MELO, I. S. de; SILVA, C. M. M. S.; SPESSOTO, A. **Biodegradação**. Jaguariuna, 2001. p. 1-14.

MOORE, A.; WARING, C. P. Mechanistic effects of a triazine pesticide on reproductive endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Parr. Pesticide Biochemistry Physiology**, New York, v. 62, p. 41-50, 1998.

NEILSON, A. H. **Organic chemicals in the aquatic environment: distribution, persistence, and toxicity**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. 438 p.

OH, K.H.; TUOVINEN, O.H. Bacterial degradation of phenoxi herbicide mixtures 2,4-D and MCP. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 47, p. 222-29, 1991.

PAPIERNIK, S. K.; SPALDING, R. F. Atrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine persistence measured in groundwater in situ under low-oxygen conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 749-754, 1998.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, INC., 1988. 275 p.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: MacGRAW-HILL, 1980. 547 p.

PEPPER, I.L.; GERBA, C.P.; BRUSSEAU, M.L., ed. **Pollution science**. London: Academic Press, 1996. 397 p.

PESSOA FILHO, M. A. C. P. de Metagenômica e sua aplicação no estudo de diversidade e função de microrganismos de solo do Cerrado / Marco Aurélio Caldas de Pinho Pessoa Filho — Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2010. 29 p. — (Documentos / Embrapa Cerrados, 284).

PINGALI, P. L.; ROGER, P. A. ed. **Impact of pesticides on farmer health and the rice environmental**, Philippines: Kluwer Academic Publishers, 1995. 664 p.

PROCESS identification and description. In: ANDERSON, W. C. (Ed.). **Bioremediation**. Alexandria : Water Environment Federation, 1995. (Innovative site remediation technology, 1). p. 3.1-3.155.

ROQUE, M. R. de A.; FERRACINI, V. L.; MELO, I. S. de. **Avaliação da degradação do herbicida diuron utilizando extração em fase sólida**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 1998. 15 p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa, 3).

SETTE, L. D.; DURRANT, L. R. Enzimas ligninolíticas produzidas por fungos cultivados sob condição microaeróbica. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1996. Campinas. **Anais**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1996. 256p. (Embrapa-CNPMA. Documento, 5).

SILVA, C. M. M. S. O fenômeno da biodegradação acelerada de pesticidas. In: MELO, I. S. de; SILVA, C. M. M. S.; SPESSOTO, A. **Biodegradação**. Jaguariuna, 2001. p. 1-14.

SLATER, J. H.; LOVATT, D. Biodegradation and the significance of microbial communities. In: GIBSON, D.T., ed. **Biochemistry of Microbial Degradation**, New York: M. Dekker. 1982. pp. 439-485.

SUN, H. L.; SHEETS, T. J.; CORBIN, F. T. Transformation of alachlor by microbial communities. **Weed Science**, Champaign, v. 38, p. 416-20, 1990.

TOPP, E.; ZHU, H.; NOUR, S. M.; HOUOT, S.; LEWIS, M.; CUPPELS, D. Characterization of a atrazine degrading *Pseudaminobacter* sp. isolated from Canadian and French agricultural soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, p. 2773-2782, 2000.

TORSTENSSON, L. Role of microorganisms in decomposition. In: HANCE, R.J., ed. **Interactions between herbicides and the soil**. London: Academic Press, 1980. 349 p.

WIDMER, S. K.; SPALDING, R. F. A natural gradient transport study of selected herbicides. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 24, p. 445-453, 1995.