

BIODEGRADAÇÃO DE PACLOBUTRAZOL POR *Pseudomonas* spp. EM SISTEMAS DE SOLO SATURADOS

Fernanda Leitão Vaz, André Maciel Netto e Antonio Celso Dantas Antonino

Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 1000, Cidade Universitária, 54740-540 Recife - PE, Brasil

Ester Ribeiro Gouveia*

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50670-901 Recife - PE, Brasil

Jean Manuel Fonseca Martins

Laboratoire d'étude de Transferts en Hydrologie et Environnement, Univ. Grenoble I, CNRS, BP 53, 38041, Grenoble Cedex 09, França

Recebido em 28/6/11; aceito em 6/12/11; publicado na web em 28/2/12

BIODEGRADATION OF PACLOBUTRAZOL IN SATURATED SOIL SYSTEMS BY *Pseudomonas* spp. Paclobutrazol is growth regulator of plants that has low mobility in soil and therefore has accumulated. The objective of this study was to investigate the paclobutrazol biodegradation in two soils from the São Francisco River Valley. The biodegradation experiments were conducted in batch using paclobutrazol and paclobutrazol added glycerol. The experiments were performed in sterile and nonsterile conditions using a mixed culture of *Pseudomonas*. The concentration of paclobutrazol was determined by high performance liquid chromatography. The biodegradation reached 43% in 14 days of experiments with only paclobutrazol and 70% in 28 days of experiments that contained glycerol and paclobutrazol.

Keywords: biodegradation; paclobutrazol; *Pseudomonas*.

INTRODUÇÃO

A rigor, define-se como xenobiótico qualquer substância química estranha ao sistema biológico humano originada externa ou internamente a ele.¹ São utilizados na agricultura com finalidade de controle fitossanitário e aumento da produtividade. Muitos desses produtos têm efeito nocivo ao meio ambiente, devendo ser recomendados de maneira criteriosa a fim de reduzir o risco de impacto ambiental.²

A degradação microbiana é considerada o mais importante processo que determina a persistência de pesticidas no solo. Os micro-organismos, devido à sua capacidade degradadora, participam de forma significativa na eliminação ou redução acentuada dos níveis desses compostos empregados na agricultura.³

Bactérias do gênero *Pseudomonas* destacam-se neste sentido, sendo descritas como capazes de degradar os mais diversos compostos,⁴⁻⁷ incluindo o paclobutrazol (PBZ).^{8,9}

O metabolismo microbiano pode resultar na completa mineralização das moléculas orgânicas, isto é, sua conversão para CO₂, água, íons inorgânicos e energia.¹⁰ Em contrapartida, muitos micro-organismos são capazes de transformar parcialmente os compostos químicos em produtos sem produção de energia para o seu crescimento. Este processo é denominado de cometabolismo e é normalmente atribuído à atividade de enzimas não específicas do metabolismo periférico celular.¹¹

Diversos fatores podem influenciar a biodegradação de compostos xenobióticos por micro-organismos, dentre eles destaca-se a presença de fontes adicionais de carbono.¹² Vários trabalhos sobre biodegradação apresentaram o benefício de uma fonte de carbono adicional,¹³⁻¹⁵ inclusive na biodegradação de PBZ.^{9,16-18}

O paclobutrazol ou, segundo a IUPAC, o [2RS, 3RS]-1-[4-clorofenil]-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pentan-3-ol], é formado por um anel triazol e um anel cloro-benzeno, ligados a uma

cadeia carbônica aberta. É um inibidor de crescimento vegetal muito utilizado nas plantações de manga, para que haja a produção deste fruto durante todo o ano.¹⁹ Esse agroquímico age inibindo a síntese de giberelina, hormônio responsável pelo crescimento vegetativo da planta, fazendo com que a planta pare de crescer e a produção de flores e frutos seja estimulada.²⁰

Estudos têm demonstrado que este composto permanece ativo no solo por muito tempo e que isso pode afetar o crescimento e desenvolvimento de colheitas subsequentes, principalmente pela redução do vigor vegetativo.^{8,21,22}

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a biodegradação do agroquímico paclobutrazol em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo) da região do Vale do São Francisco, na região Nordeste do Brasil, por bactérias do gênero *Pseudomonas* isoladas da mesma região.

PARTE EXPERIMENTAL

Solo

Os solos foram coletados de regiões com plantio de manga (*Mangifera indica* L. cv. Tommy Atkins) irrigada, sem histórico de aplicação de paclobutrazol, pertencentes à EMBRAPA Semi-Árido, localizadas no Vale do São Francisco, no Nordeste do Brasil. Os solos foram classificados como Argissolo-Amarelo e Vertissolo.²³

Para os experimentos em condições estéreis, os solos foram esterilizados utilizando radiação gama numa dose de 35 KGy. A fonte de radiação gama utilizada foi um irradiador de Cobalto-60, modelo Gamacell 220.

Paclobutrazol

Foram utilizados Paclobutrazol na sua forma pura (Sigma) e na sua formulação comercial Cultar 250 SC (Syngenta), que apresenta

*e-mail: estergouveia@gmail.com

uma concentração de 250 g/L de paclobutrazol e 750 g/L de ingredientes inertes.

Micro-organismos

Os micro-organismos utilizados foram isolados em pesquisas anteriores.⁹ Foi usada uma cultura mista de três bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* spp. com potencial capacidade de degradação do paclobutrazol, que foram isolados de solo da região do Vale do São Francisco, portanto, são micro-organismos adaptados às condições climáticas da região.⁹

O meio Agar Triptona Soja (TSA) foi utilizado na preservação, manutenção e reativação dos micro-organismos isolados. Para a preparação do inóculo, as culturas puras de *Pseudomonas* isoladas dos solos foram inoculadas em meio TSA a 30 °C. Após 24 h, foi realizado o repique em 40 mL de caldo nutriente. Após um período, entre 4 e 6 h de incubação, a 30 °C e 250 rpm de agitação, quando todos os inóculos apresentaram aproximadamente 0,5 de absorbância a 420 nm, as três linhagens foram misturadas e centrifugadas a 7000 g por 10 min. As células sedimentadas foram ressuspensas no mesmo volume de água estéril e esta suspensão foi utilizada como inóculo.

Ensaio de biodegradação

O ensaio de biodegradação foi realizado em batelada em condições estéreis (solo estéril por radiação gama) e não estéreis (solo ao natural para verificar a participação dos micro-organismos do solo) baseado em trabalho prévio.²⁴

O experimento foi realizado com duas concentrações de PBZ, 10 e 25 mg/L, para os dois solos e em triplicata. Estas concentrações foram escolhidas, pois se encontram dentro da faixa de solubilidade do PBZ em água, que é de 26 mg/L. Foi empregado tanto o PBZ na sua forma pura (Sigma) como na sua formulação comercial Cultar 250 SC (Syngenta). Adicionalmente, foram feitos experimentos utilizando o PBZ-Cultar adicionado de glicerol, este como fonte de carbono adicional. O glicerol foi utilizado nas concentrações de 50 e 125 mg/L, quando a concentração de PBZ foi de 10 e de 25 mg/L, respectivamente, mantendo a proporção glicerol:PBZ (5:1) utilizada em estudos anteriores.⁹

Os experimentos foram realizados em frascos de 60 mL, onde foram adicionados 5 g de solo para um volume de 25 mL de líquido. Os micro-organismos foram adicionados na concentração de aproximadamente 10^7 células/mL. Um experimento controle foi realizado, apenas para a concentração de PBZ de 25 mg/L, sem adição de micro-organismos. Os experimentos foram conduzidos em mesa agitadora a 200 rpm, a 30 °C, durante o período de aproximadamente 35 dias (*d*). Amostras de 1 mL foram retiradas para a quantificação de PBZ e medida do pH, em intervalos pré-definidos. Os micro-organismos foram quantificados em tempos alternados.

Análise estatística

Foi realizada uma análise de variância (ANOVA) para os resultados de biodegradação, para avaliar a significância estatística, utilizando o programa Excel (Office 2003). Na ANOVA, os resultados são considerados significativamente diferentes apenas se $F_{\text{calculado}}$ for maior do que F_{tabelado} .²⁵

Quantificação do crescimento de micro-organismos e medida de pH

O crescimento bacteriano foi quantificado pela técnica de contagem de células viáveis em placas. A amostra contendo células

bacterianas foi diluída serialmente em água estéril e essas diluições foram plaqueadas em placas de petri com meio de cultura Ágar Triptona Soja (TSA) e incubadas por 24 h em estufa a 30 °C para a contagem das colônias.²⁶

O pH da suspensão foi monitorado durante todos os experimentos para verificar a sua variação e a sua possível influência sobre o crescimento das bactérias e, conseqüentemente, sobre a biodegradação do PBZ.

Determinação do paclobutrazol

A extração de PBZ foi feita de acordo com estudos anteriores.⁹ Amostras de 1 mL foram coletadas em intervalos de tempo pré-definidos. De cada amostra foi extraído PBZ adicionando-se 9 mL de metanol, logo após centrifugou-se a 7000 g por 10 min. O sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,2 µm e injetado diretamente no cromatógrafo.

A concentração de paclobutrazol foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um cromatógrafo Agilent HP 1100, segundo metodologia descrita previamente.²⁷ A coluna utilizada foi uma ODS (fase estacionária C18) 4,6 x 250 mm x 5 µm diâmetro de partícula (Beckman Ultrasphere) e as condições de operação foram fase móvel água:metanol (10:90, v/v) e vazão de 0,7 mL/min.

Determinação do glicerol

Para a quantificação do glicerol amostras de 5 mL foram centrifugadas a 7000 g por 10 min. O sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,2 µm e injetado diretamente no cromatógrafo.

O glicerol foi quantificado por CLAE em um cromatógrafo Agilent HP 1100. As condições de trabalho foram as seguintes: 50 °C, 1 mL/min e uma coluna Shodex KS 802 (Lonpak – divisão da Millipore).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento microbiano para os ensaios em condições estéreis apresentou valores iniciais de aproximadamente $1,0 \times 10^7$ UFC/mL. Esta quantidade corresponde ao inóculo de micro-organismos adicionados ao experimento. Esse valor foi semelhante para os dois tipos de PBZ (Sigma e Cultar), para os dois tipos de solo (Argissolo-Amarelo e Vertissolo) e para ambas as concentrações de PBZ (10 e 25 mg/L) utilizadas, tanto nos experimentos com apenas PBZ, quanto nos experimentos com PBZ e glicerol (Tabela 1).

Para os ensaios em condições não estéreis, a quantidade de células iniciais corresponde ao inóculo de micro-organismos adicionados ao experimento, juntamente com os micro-organismos presentes no solo. Logo, o tempo inicial, nesses ensaios, apresentou valores um pouco maiores que os obtidos nos experimentos em condições estéreis, ficando em média $2,0 \times 10^7$ UFC/mL.

Apesar da diferença na quantidade de células iniciais, entre os experimentos em condições estéreis e não estéreis, após 21 *d* de ensaio, os valores obtidos foram semelhantes para as duas condições, tanto nos experimentos utilizando PBZ como única fonte de carbono, quanto nos experimentos utilizando além do PBZ, o glicerol.

Nos experimentos utilizando apenas o PBZ, o crescimento microbiano foi bem menor ao longo do tempo, quando comparado aos valores de crescimento observados na presença de glicerol (Tabela 1).

Não houve diferença no crescimento microbiano nem entre os dois tipos de PBZ (Sigma e Cultar), nem entre os dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo). Nos ensaios com PBZ como única fonte de carbono, não houve diferença no crescimento, também entre as duas concentrações de PBZ utilizadas (10 e 25 mg/L); em

Tabela 1. Crescimento dos micro-organismos durante os experimentos de biodegradação

	Solo	Concentração de PBZ	Concentração de glicerol	0 d	14 d	21 d	35 d
PBZ (sigma) - estéril	Argissolo	10 mg/L	-	8,70.10 ⁶	1,60.10 ⁷	2,95.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	9,10.10 ⁶	1,85.10 ⁷	3,00.10 ⁷	-
	Vertissolo	10 mg/L	-	9,60.10 ⁶	1,46.10 ⁷	2,96.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	9,70.10 ⁶	1,50.10 ⁷	3,12.10 ⁷	-
PBZ (cultar) - estéril	Argissolo	10 mg/L	-	9,10.10 ⁶	2,40.10 ⁷	3,10.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	9,30.10 ⁶	1,90.10 ⁷	3,50.10 ⁷	-
	Vertissolo	10 mg/L	-	9,50.10 ⁶	2,30.10 ⁷	3,30.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	9,90.10 ⁶	2,50.10 ⁷	3,34.10 ⁷	-
PBZ (sigma) - não estéril	Argissolo	10 mg/L	-	1,49.10 ⁷	2,47.10 ⁷	3,15.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	1,58.10 ⁷	2,35.10 ⁷	2,98.10 ⁷	-
	Vertissolo	10 mg/L	-	1,51.10 ⁷	2,23.10 ⁷	2,89.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	1,47.10 ⁷	3,10.10 ⁷	3,25.10 ⁷	-
PBZ (cultar) - não estéril	Argissolo	10 mg/L	-	2,30.10 ⁷	2,40.10 ⁷	3,25.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	2,00.10 ⁷	2,45.10 ⁷	3,18.10 ⁷	-
	Vertissolo	10 mg/L	-	2,30.10 ⁷	2,56.10 ⁷	3,36.10 ⁷	-
		25 mg/L	-	2,10.10 ⁷	2,70.10 ⁷	3,40.10 ⁷	-
PBZ (cultar) e Glicerol - estéril	Argissolo	10 mg/L	50 mg/L	3,57.10 ⁷	1,30.10 ⁸	3,30.10 ⁸	3,90.10 ⁸
		25 mg/L	125 mg/L	4,36.10 ⁷	2,60.10 ⁸	4,11.10 ⁸	5,00.10 ⁸
	Vertissolo	10 mg/L	50 mg/L	4,05.10 ⁷	1,50.10 ⁸	2,89.10 ⁸	3,50.10 ⁸
		25 mg/L	125 mg/L	4,53.10 ⁷	2,50.10 ⁸	4,83.10 ⁸	4,86.10 ⁸
PBZ (cultar) e Glicerol - Não estéril	Argissolo	10 mg/L	50 mg/L	4,22.10 ⁸	3,50.10 ⁹	4,70.10 ⁹	3,50.10 ⁹
		25 mg/L	125 mg/L	3,87.10 ⁸	7,45.10 ⁹	8,85.10 ⁹	8,45.10 ⁹
	Vertissolo	10 mg/L	50 mg/L	3,99.10 ⁸	2,96.10 ⁹	5,06.10 ⁹	4,88.10 ⁹
		25 mg/L	125 mg/L	4,10.10 ⁸	8,70.10 ⁹	7,87.10 ⁹	8,88.10 ⁹

contrapartida, nos experimentos contendo glicerol, houve maior crescimento quando foi utilizada a concentração de PBZ de 25 mg/L, atribuída a uma maior quantidade de glicerol (125 mg/L), se comparado aos ensaios com a concentração de PBZ de 10 mg/L, em que foi empregada uma concentração de glicerol de 50 mg/L.

Não houve alteração do pH ao longo dos experimentos. Essas medidas foram semelhantes para os experimentos realizados em condições estéreis e não estéreis. O pH ficou em torno de $5,33 \pm 0,25$ para o Argissolo-Amarelo nas duas concentrações (10 e 25 mg/L), para os dois PBZ (Sigma e Cultar), bem como nos experimentos com glicerol. O mesmo ocorreu para o Vertissolo, que teve o pH de $6,61 \pm 0,29$, em todos os ensaios realizados. Essa variação se deve às características do solo, pois o Argissolo-Amarelo é rico em oxí-hidróxidos de Fe e Al, e no Vertissolo há a predominância de argilas silicatadas.²⁸ A não variação do pH indicou que não houve interferência desse fator e que a diferença de pH entre os dois tipos de solo também não afetou a biodegradação.

A biodegradação de PBZ, nos ensaios utilizando esse agroquímico como única fonte de carbono, quando sua concentração inicial foi de 10 mg/L, foi aproximadamente 43% após 14 d de cultivo em todos os ensaios (Figuras 1 e 2). Enquanto isso, nos ensaios com o glicerol, como fonte de carbono adicional, a biodegradação chegou a 70% em 28 d de ensaio, para os dois solos e para as condições estéril e não estéril (Figuras 3 e 4).

Os resultados obtidos para a concentração de 25 mg/L de PBZ também não apresentaram diferença significativa dos resultados obtidos utilizando 10 mg/L, em ambos os solos, em ambas as fontes

de PBZ, e em ambas as condições estudadas, apresentando em média 40% de biodegradação de PBZ, nos experimentos em que este foi a única fonte de carbono (Figuras 1 e 2) e 69% nos experimentos adicionados de glicerol, para os dois solos e para as duas condições estudadas (Figuras 3 e 4).

A concentração de glicerol, nos experimentos em que foi utilizado como fonte de carbono adicional, diminuiu rapidamente, e foi totalmente consumido após 4 d de ensaio, para as duas concentrações avaliadas (50 e 125 mg/L). Nos experimentos em condição estéril, o glicerol controle (experimentos sem micro-organismos) não foi consumido (Figura 5), no entanto, nos ensaios em condição não estéril, o glicerol controle foi totalmente naturalmente consumido, pelas bactérias presentes no solo (Figuras 6).

Nos experimentos utilizando PBZ como única fonte de carbono, a ANOVA com 95% de confiança, para os resultados de biodegradação, mostrou que não houve diferença significativa entre os dois solos estudados, bem como para os PBZ-Sigma e PBZ-Cultar empregados. Houve uma pequena diferença significativa entre os experimentos utilizando PBZ-Sigma e PBZ-Cultar em condições estéreis, no entanto, essa diferença não foi verificada nos experimentos com condições não estéreis (Tabela 2). Essa diferença provavelmente foi ocasionada por um dos pontos que apresentou maiores valores de biodegradação. Também não houve diferenças significativas entre os experimentos utilizando PBZ e glicerol como fonte adicional de carbono. Foram obtidos resultados semelhantes, para os dois solos, para as duas concentrações e para as duas condições experimentais. No entanto, houve uma grande diferença significativa quando se comparam os

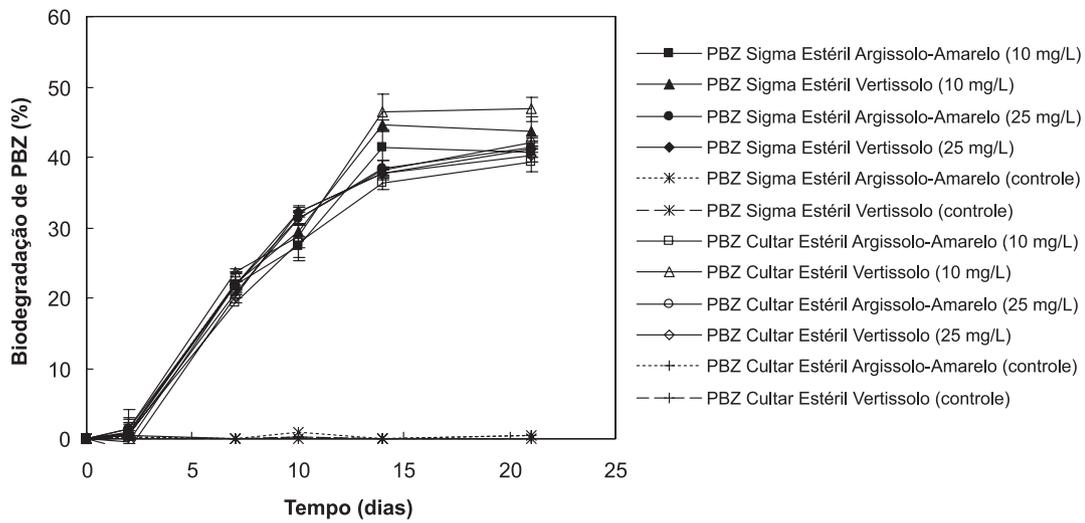


Figura 1. Biodegradação de paclobutrazol em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo) e em duas concentrações de PBZ (10 e 25 mg/L), utilizando PBZ-Sigma e Cultar em condição estéril

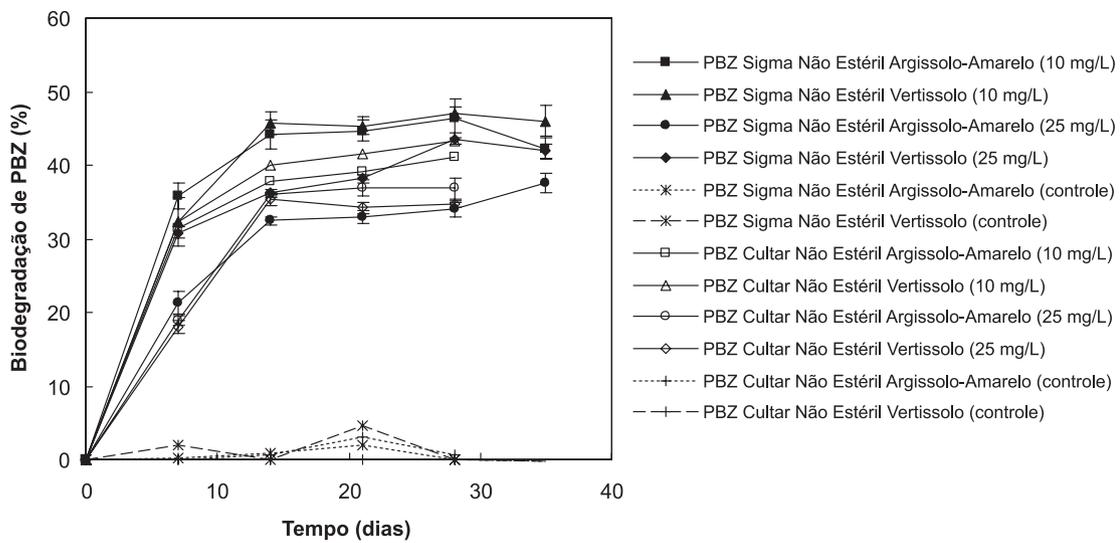


Figura 2. Biodegradação de paclobutrazol em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo) e em duas concentrações de PBZ (10 e 25 mg/L), utilizando PBZ-Sigma e Cultar em condição não estéril

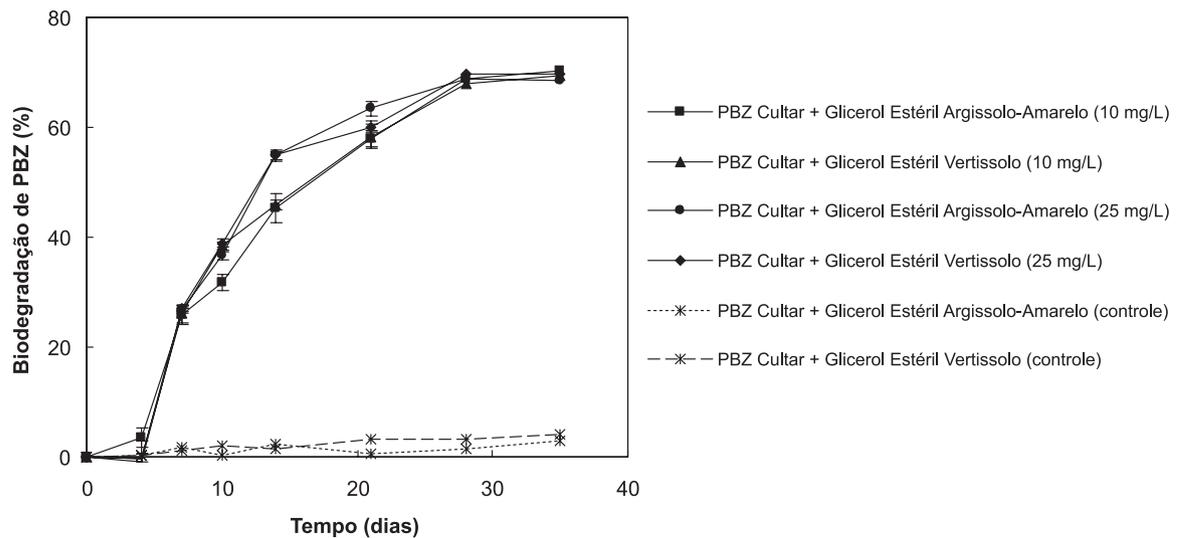


Figura 3. Biodegradação de paclobutrazol em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo), em condição estéril, utilizando PBZ-Cultar e glicerol como fonte adicional de carbono, nas duas concentrações estudadas (PBZ, 10 mg/L e glicerol, 50 mg/L; PBZ, 25 mg/L e glicerol, 125 mg/L)

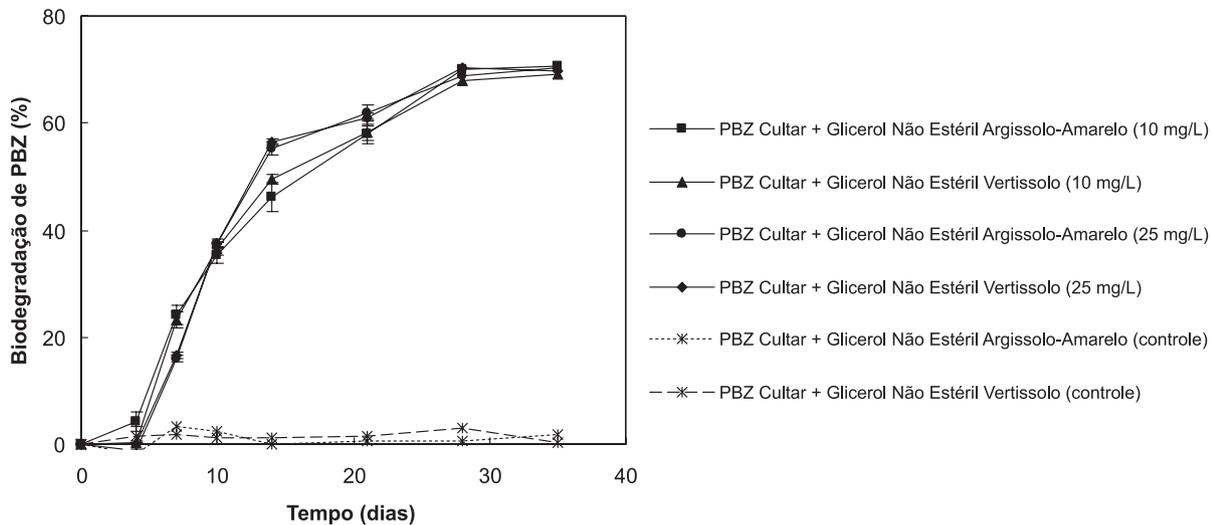


Figura 4. Biodegradação de paclobutrazol em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo), em condição não estéril, utilizando PBZ-Cultar e glicerol como fonte adicional de carbono, nas duas concentrações estudadas (PBZ, 10 mg/L e glicerol, 50 mg/L; PBZ, 25 mg/L e glicerol, 125 mg/L)

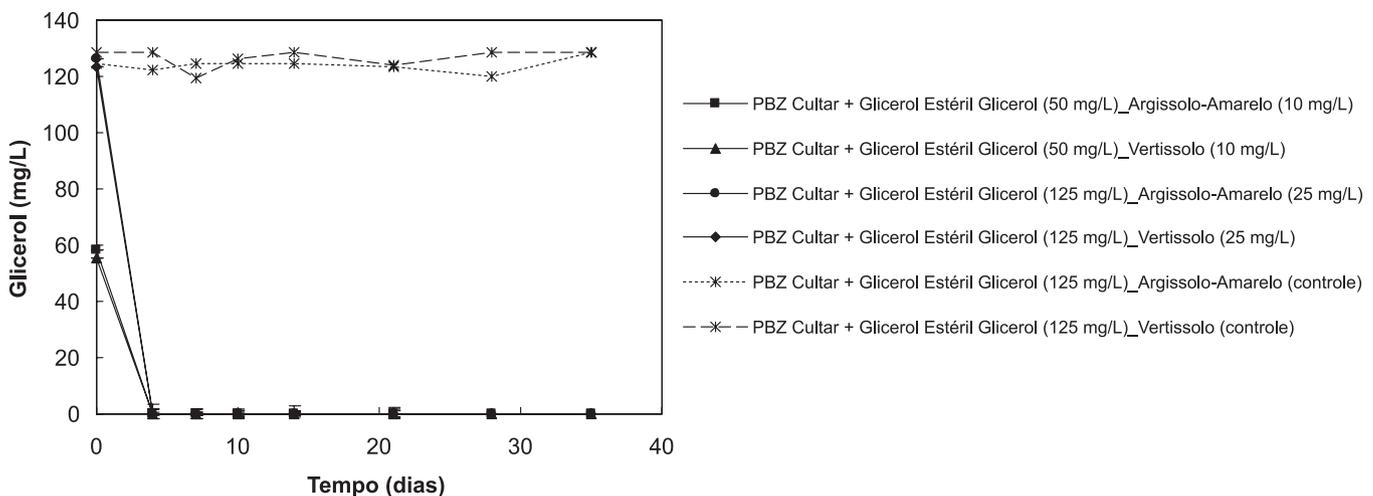


Figura 5. Consumo de glicerol durante os ensaios de biodegradação de paclobutrazol, em condição estéril, em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo), utilizando PBZ-Cultar e glicerol como fonte adicional de carbono, nas duas concentrações estudadas (PBZ, 10 mg/L e glicerol, 50 mg/L; PBZ, 25 mg/L e glicerol, 125 mg/L)

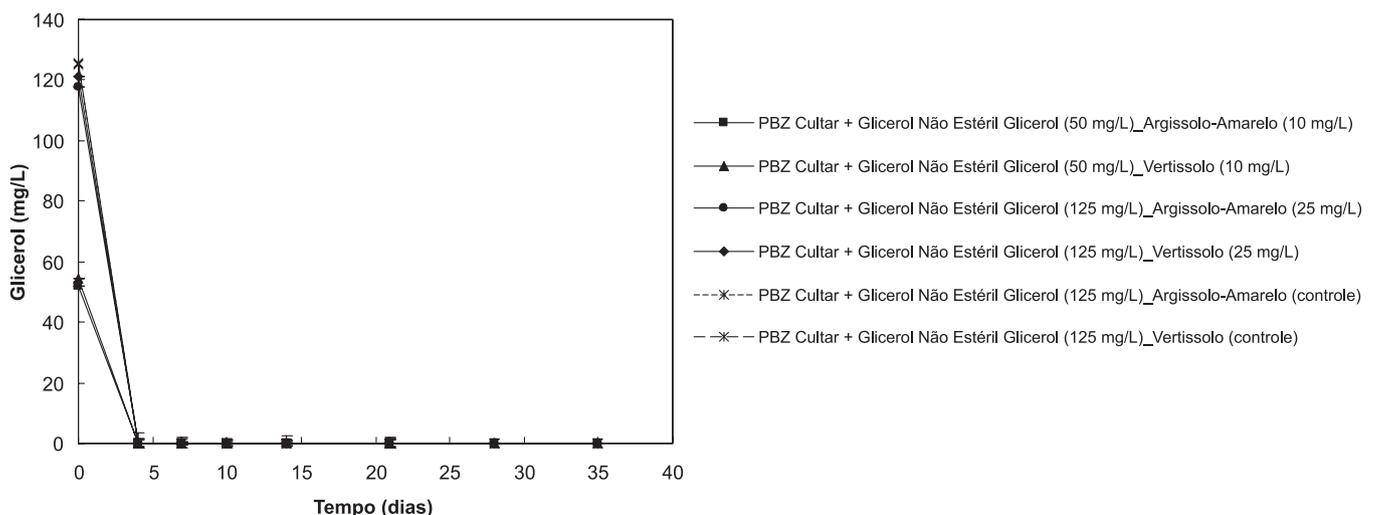


Figura 6. Consumo de glicerol durante os ensaios de biodegradação de paclobutrazol, em condição não estéril, em dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo), utilizando PBZ-Cultar e glicerol como fonte adicional de carbono, nas duas concentrações estudadas (PBZ, 10 mg/L e glicerol, 50 mg/L; PBZ, 25 mg/L e glicerol, 125 mg/L)

Tabela 2. ANOVA para os ensaios de biodegradação

PBZ-Sigma x PBZ-Cultar estéril e não estéril					
Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Entre grupos	332,1884	15	22,1459	1,435	1,99199
Dentro dos grupos	291,0376	32	9,0949		
PBZ-Sigma x PBZ-Cultar estéril					
Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Entre grupos	61,9028	7	8,8433	2,7675	2,657197
Dentro dos grupos	51,1271	16	3,1954		
PBZ-Sigma x PBZ-Cultar não estéril					
Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Entre grupos	251,7384	7	35,9626	2,3984	2,657197
Dentro dos grupos	239,9105	16	14,9944		
PBZ-Cultar x PBZ-Cultar + Glicerol estéril e não estéril					
Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Entre grupos	10664,1986	15	710,9466	176,344	1,99199
Dentro dos grupos	129,0109	32	4,0316		

experimentos utilizando apenas PBZ como fonte de carbono e os ensaios que utilizaram PBZ adicionado de glicerol, como pode ser verificado na Tabela 2.

Diferentemente do que se possa pensar, o aumento no crescimento microbiano atribuído ao glicerol não é de todo responsável pelo aumento da biodegradação, pois em experimentos anteriores realizados por Vaz,²⁹ utilizando a glicose como fonte de carbono adicional, contribuiu para o crescimento dos micro-organismos, no entanto, inibiu a biodegradação do PBZ. Essa inibição da biodegradação, na presença de outra fonte de carbono, pode ser atribuída a uma repressão catabólica. A diferença entre os experimentos sem e com glicerol como fonte adicional de carbono se deve provavelmente a um processo cometabólico, em que enzimas utilizadas na degradação do glicero, também devem ter contribuído com a biodegradação do PBZ.

Em inúmeros trabalhos sobre biodegradação, diferentes autores verificaram o benefício de uma fonte de carbono adicional. Em trabalhos mais recentes, autores observaram uma diminuição de 62 h na biodegradação de fenol por *Aspergillus* sp. com glicose no meio, enquanto outras pesquisas demonstraram o uso de acetato como fonte de carbono secundária na degradação de fenol, verificando-se uma maior eficiência da biodegradação do composto citado.^{30,31}

A não divergência entre os experimentos realizados em condições estéreis e não estéreis revela que não há participação na biodegradação pelas bactérias presentes no solo não estéril, ou estas se encontram em pequena quantidade. Diante desse resultado, a biodegradação de PBZ obtida pode ser atribuída exclusivamente às bactérias *Pseudomonas* adicionadas no experimento. Só foi encontrada diferença significativa quando foram comparados os ensaios com apenas PBZ com os que utilizaram PBZ e glicerol.

Para os dois solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo), para as duas fontes de PBZ (Sigma e Cultar) e para as duas concentrações de PBZ utilizadas (10 e 25 mg/L) nos experimentos em condições estéreis, houve um pequeno período de fase lag (período em que praticamente não há biodegradação) de aproximadamente 2 d nos experimentos em que foi utilizado PBZ como única fonte de carbono, e de 4 d, quando foram usados PBZ e glicerol. Não foi verificada a presença de fase lag nos ensaios em condições não estéreis, visto que a primeira amostra, nesses experimentos, só foi retirada após 7 d de seu início.

Em todos os experimentos, tanto em condições estéreis como em não estéreis, a biodegradação praticamente não aumentou após certo

período de tempo, de aproximadamente 14 e 28 d, nos experimentos com apenas PBZ e nos com PBZ e glicerol, respectivamente. Em um estudo anteriormente realizado, em meio líquido de cultura com apenas PBZ como fonte de carbono na concentração de 1 g/L, e com a cultura mista utilizada no presente trabalho, a biodegradação cessou com 20 d de cultivo, chegando a aproximadamente 47%.⁹ Quando esse mesmo autor utilizou o glicerol como fonte adicional de carbono, a biodegradação chegou a 75% em 10 d. O menor tempo e a maior biodegradação obtidos por esses autores, no entanto, podem ser atribuídos aos experimentos que, nesse caso, foram realizados em meio mineral líquido, sem a presença de solo. Portanto, os resultados encontrados no presente trabalho, em sistemas de solo saturado, simulam mais precisamente as condições ambientais onde o agroquímico é encontrado. Outros trabalhos sobre a biodegradação de PBZ também apresentaram essa estabilização na degradação após um período do experimento.^{8,19} O PBZ não é mais degradado, provavelmente, por alguma incapacidade dessas bactérias de produzir enzimas necessárias a essa degradação.

CONCLUSÃO

Nos ensaios com o agroquímico paclobutrazol, os fatores estudados, fonte de PBZ (PBZ-Sigma e PBZ-Cultar), solos (Argissolo-Amarelo e Vertissolo), concentração inicial de PBZ (10 e 25 mg/L) e condições estéreis e não estéreis não afetaram a biodegradação de PBZ (tais variáveis não foram significativas – a partir do teste de variância, ANOVA). Em contrapartida, a presença do glicerol, como fonte de carbono adicional, mostrou-se bastante eficiente em proporcionar um aumento significativo da biodegradação de PBZ.

REFERÊNCIAS

- Teixeira, A.; *Revista Nutr* **2009**, outubro, 46.
- Araújo, A. S. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2002.
- Araújo, A. S. F.; Monteiro, R. T. R.; Abarkeli, R. B.; *Chemosphere* **2003**, 52, 799.
- Baker, K. H.; *Bioremediation*, Ed. McGraw-Hill, Inc.: New York, 1994, p. 203-249.
- Foster, L. J.; Kwan, B. H.; Vancov, T.; *FEMS Microbiol. Lett.* **2004**, 240, 49.

6. Ghazali, F. M.; Rahman, R. N. Z. A.; Salleh, A. B.; Basri, M.; *Int. Biodegrad. Biodeg.* **2004**, *54*, 61.
7. Kargi, F.; Eker, S.; *Int. Biodegrad. Biodeg.* **2005**, *55*, 25.
8. Jackson, M. J.; Line, M. A.; Hasan, O.; *Soil Biol. Biochem.* **1996**, *28*, 1265.
9. Vaz, F. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2006.
10. Gaylarde, C. C.; Bellinaso, M. L.; Manfio G. P.; *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* **2005**, *34*, 36.
11. Silva, C. M. M. S.; Fay, E. F.; Jonsson, C. M. Em *Impacto Ambiental do Regulador de Crescimento Vegetal Paclobutrazol*; Silva, C. M. M. S.; Fay, E. F., eds.; EMBRAPA Meio Ambiente: Jaguariúna, 2003, p. 9-14.
12. Singh, B. K.; Walker, A.; Morgan, J. A. W.; Wright, D. J.; *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, *69*, 5198.
13. LaPat-Polasko, L. T.; McCarty, P. L.; Zehnder, A. J. B.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1984**, *47*, 825.
14. Schmidt, S. K.; Scow, K. M.; Alexander, M.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1987**, *53*, 2617.
15. Lee, K.; Park, J. W.; Ahn, I. S.; *J. Hazard. Mater.* **2003**, *105*, 157.
16. Figueiredo, C. M.; Gondim, M. V. S.; Gouveia, E. R.; *Resumos do III Congresso Nacional de Meio Ambiente*, Salvador, Brasil, 2004.
17. Gondim, M. V. S.; Figueiredo, C. M.; Gouveia, E. R.; *Resumos do III Congresso Nacional de Meio Ambiente*, Salvador, Brasil, 2004.
18. Vaz, F. L.; Netto, A. M.; Gouveia, E. R.; *Resumos do 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia*, Porto de Galinhas, Brasil, 2009.
19. Silva, C. M. M. S.; Fay, E. F.; Vieira, R. F.; *Pesq. Agropec. Bras.* **2003**, *38*, 1223.
20. Srivastav, M.; Kishor, A.; Dahuja, A.; Sharma, R. R.; *Sci. Horticulturae* **2010**, *125*, 785.
21. Sharma, D.; Awasthi, M. D.; *Chemosphere* **2005**, *60*, 164.
22. Singh, V. K.; Bhattacharjee, A. K.; *Sci. Horticulturae* **2005**, *101*, 53.
23. Milfont, M. L.; Martins, J. M. F.; Antonino, A. C. D.; Gouveia, E. R.; Netto, A. M.; Guiné, V.; Mas, H.; Freire, M. B. G. S.; *J. Environ. Qual.* **2008**, *37*, 90.
24. Martins, J. M. F.; Mermoud, A.; *J. Contam. Hydrol.* **1998**, *33*, 187.
25. Callegari-Jacques, S. M.; *Bioestatística*, Ed. Artmed S.A.: Porto Alegre, 2003, p. 153.
26. Tortora, G.; Funke, B. R.; Case, C. L.; *Microbiologia*, 6ª ed., Ed. Artmed S.A.: Porto Alegre, 1998, cap. 6.
27. Vaz, F. L.; Milfont, M. L. B.; Souto-Maior, A. M.; Gouveia, E. R.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 281.
28. Milfont, M. L.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2006.
29. Vaz, F. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2006.
30. Passos, C. T.; Burkert, J. F. M.; Kali, S. J.; Burkert, C. A. V.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 950.
31. Ho, K. L.; Lin, B.; Chen, Y. Y.; Lee, D. J.; *Bioresour. Technol.* **2009**, *100*, 5051.